

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIPIRÉTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO
DE LA CORTEZA DE *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel
(TACSANA) EN RATAS ALBINAS**

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

TESISTAS: BACH: Cuevas Huanaco, Mónica Marilyn
BACH: Flores Tipte, Katherin Mariela

ASESOR: Mg. Q.F. Martínez Cortez, Ysabel

Lima – Perú

2019

**EFFECTO ANTIPIRÉTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO
DE LA CORTEZA DE *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel
(TACSANA) EN RATAS ALBINAS**

DEDICATORIA

A mis padres por ser mi mayor motivo para salir adelante y por darme las fuerzas necesarias para nunca rendirme.

A mis familiares y grandes amigos que estuvieron y están en todo momento de mi vida dándome palabras de aliento para no decaer y siendo un gran apoyo emocional.

Al Doctor Oscar Araujo Hernández por su apoyo incondicional durante toda mi etapa universitaria.

Mónica Cuevas

A Dios por toda la fuerza que me brinda en todo momento.

A mis padres por el gran apoyo incondicional, inspirándome cada día a seguir adelante hasta terminar con este gran reto.

A mis hermanas que siempre me ayudaron a no perder el enfoque en este trabajo.

Katherin Flores

AGRADECIMIENTO

A nuestra asesora Mg. Q.F. Martínez Cortez, Ysabel por su compromiso, dedicación y apoyo permanente. Nuestro sincero agradecimiento.

Al Mg. Q.F. Herrera Calderón Oscar de la Facultad de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por brindarnos sus conocimientos, experiencia y apoyo desinteresado.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega en especial consideración al Mg. Q.F. Acosta Cornejo Orlando y al Dr. Q.F. Bonilla Rivera Pablo por sus acertados consejos.

INDICE GENERAL

Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Abreviaturas	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2. Formulación del problema.....	3
1.2.1. Problema general.....	3
1.2.2. Problemas específicos.....	3
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Justificación e importancia del estudio.....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes del estudio.....	5
2.1.1. Nacionales.....	5
2.1.2. Internacionales.....	8
2.2. Bases Teóricas.....	12
2.2.1. Tacsana (<i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel).....	12
2.2.1.1. Descripción botánica.....	12
2.2.1.2. Distribución botánica.....	12
2.2.1.3. Clasificación taxonómica.....	13
2.2.1.4. Principios activos.....	13
2.2.1.5. Usos.....	17
2.2.2. Fiebre.....	18
2.2.2.1. Definición.....	18

2.2.2.2. Termorregulación.....	18
2.2.2.3. Clasificación.....	20
2.2.2.4. Etiología.....	21
2.2.2.5. Fisiopatología.....	22
2.2.2.6. Tratamiento.....	23
2.2.2.6.1. Tratamiento físico.....	23
2.2.2.6.2. Tratamiento farmacológico.....	23
2.2.2.7. Paracetamol.....	24
2.2.2.7.1. Mecanismo de acción.....	24
2.2.2.7.2. Farmacocinética.....	25
2.2.2.7.3. Indicaciones.....	25
2.2.2.7.4. Efectos adversos.....	26
2.2.2.7.5. Dosificación.....	26
2.2.2.7.6. Toxicidad.....	27
2.3. Hipótesis.....	28
2.3.1. Hipótesis general.....	28
2.3.2. Hipótesis específicas.....	28
2.4. Variables.....	28
2.4.1. Tabla de operacionalización de Variables.....	28
2.5. Marco conceptual.....	29
CAPÍTULO III: METODO	30
3.1. Tipo de estudio.....	30
3.2. Diseño a utilizar.....	30
3.3. Población.....	30
3.4. Muestra.....	30
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	31
3.5.1. Técnicas.....	31
3.5.2. Instrumentos de recolección de datos.....	32
3.5.3. Materiales, reactivos y equipos.....	32
3.6. Procedimiento experimental.....	33
3.6.1. Recolección de la muestra vegetal.....	33
3.6.2. Preparación de la muestra.....	34
3.6.3. Obtención del Extracto hidroalcohólico.....	34

3.6.4.	Ensayos Fitoquímicos.....	35
3.6.4.1	Prueba de solubilidad	35
3.6.4.2	Screening fitoquímico.....	35
3.6.5.	Determinación del efecto antipirético.....	37
3.6.5.1.	Fundamento.....	37
3.6.5.2.	Preparación de la muestra animal.....	38
3.6.5.3.	Estudio preliminar a la inducción de fiebre.....	39
3.6.5.4.	Inducción de la pirexia.....	39
3.6.5.5.	Efecto antipirético.....	40
CAPÍTULO IV:	PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	42
4.1.	Presentación de resultados.....	42
4.1.1.	Resultados de prueba de solubilidad.....	42
4.1.2.	Resultados de screening fitoquímico.....	43
4.1.3.	Resultados del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel.....	44
4.1.4.	Resultados estadísticos.....	45
4.1.4.1.	Resultados estadísticos de la evaluación de la temperatura en cada tratamiento con respecto al tiempo.....	45
4.1.4.2.	Prueba de normalidad.....	46
4.1.4.3.	Evaluación del modelo de Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas entre el tiempo vs tratamiento.....	47
4.1.4.4.	Comparación entre los grupos experimentales con el grupo control positivo en relación al tiempo.....	48
4.1.4.5.	Comparación entre los grupos experimentales.....	49
4.2.	Contrastación de hipótesis.....	51
4.2.1.	Contrastación de hipótesis general.....	51
4.2.2.	Contrastación de hipótesis específica.....	51
4.3.	Discusión de resultados.....	52
CAPÍTULO V:	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
5.1.	Conclusiones.....	54
5.2.	Recomendaciones.....	55
	REFERENCIAS.....	56

ANEXOS:

Anexo N° 1: Matriz de consistencia

Anexo N° 2: Certificado Botánico

Anexo N° 3: Certificado de sanidad de animales de experimentación

Anexo N° 4: Ficha técnica

Anexo N° 5: Testimonios fotográficos

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01:	Operacionalización de las variables.....	28
Tabla N° 02:	Volumen administrado del agente inductor.....	39
Tabla N° 03:	Grupos experimentales.....	40
Tabla N° 04:	Resultado de prueba de solubilidad.....	42
Tabla N° 05:	Resultado de la screening fitoquímico.....	43
Tabla N° 06:	Resultado de la medida de temperatura a diferentes concentraciones y tiempo.....	44
Tabla N° 07:	Resultados estadísticos de la evaluación de la temperatura en cada tratamiento con respecto al tiempo.....	45
Tabla N° 08:	Prueba de normalidad.....	46
Tabla N° 09:	Evaluación del modelo de Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas entre el tiempo vs. tratamiento.....	47
Tabla N° 10:	Comparación entre los grupos experimentales con el grupo control positivo en relación al tiempo.....	48
Tabla N° 11:	Comparación entre los grupos experimentales.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01:	Recolección de la corteza.....	33
Figura N° 02:	Secado de la corteza.....	34
Figura N° 03:	Filtrado de la maceración.....	35
Figura N° 04:	Bioterio con animales de experimentación.....	38
Figura N° 05:	Toma de la temperatura rectal.....	38
Figura N° 06:	Administración Subcutánea del agente inductor.....	39
Figura N° 07:	Administración orogástrica del extracto.....	41
Figura N° 08:	Resultados estadísticos de la temperatura en relación con el tiempo.....	50
Figura N° 09:	Recolección de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F.Gmel en la provincia de Huancavelica.....	69
Figura N° 10:	Preparación del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F.Gmel.....	69
Figura N° 11:	Obtención del extracto seco de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel.....	70
Figura N° 12:	Prueba de Solubilidad.....	70
Figura N° 13:	Resultado del screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F.Gmel.....	71
Figura N° 14:	Preparación del agente inductor.....	71
Figura N° 15:	Esquema preparación de sustancia experimental a diferentes concentraciones.....	72
Figura N° 16:	Medición de la temperatura rectal en animales de experimentación.....	72
Figura N° 17:	Acondicionado de lo animales de experimentación.....	72

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) procedente de la provincia de Huancavelica. Se determinó los metabolitos mediante el screening fitoquímico. Teniendo como resultado la mayor presencia compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas. El procedimiento experimental para la evaluación del efecto antipirético se efectuó utilizando 35 ratas albinas. Se dividieron en 5 grupos: grupo I, II y III se administraron el extracto seco de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel en 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg respectivamente, grupo IV paracetamol® 150 mg/kg y grupo V agua destilada 5ml/kg como placebo. Antes de la administración del agente pirógeno experimental se midió la temperatura rectal que constituyó la temperatura basal; luego se administró vía subcutánea una suspensión acuosa de levadura de cerveza al 15% como agente pirógeno exógeno. Transcurridas las 18 horas se utilizaron todas las ratas con un incremento 0.5 °C-1.0 °C sobre su temperatura basal y en relación al grupo control, a partir de ese tiempo se administraron los extractos. Posteriormente se midió la temperatura rectal después de 1, 2, 3, 4 y 5 horas de la administración. Después de 1 hora se evidenció una reducción de temperatura en las ratas que se le administraron los extractos y el paracetamol, pero también en la concentración de 200 y 400 mg/kg se presenta la muerte de 1 y 5 ratas respectivamente. Entre las tres concentraciones (100, 200 y 400 mg/kg) no existe una diferencia estadística significativa a lo que hace referencia que tienen casi el mismo efecto antipirético sin mucha diferencia entre ellas ya que la temperatura de las ratas que han sido tratadas por los extractos, coincidirá en algún momento.

Palabras clave: Tacsana, efecto antipirético, extracto hidroalcohólico, fiebre.

ABSTRACT

In the present research work, the antipyretic effect of the hydroalcoholic extract of the bark of *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) from the province of Huancavelica. The metabolites were determined by the phytochemical screening. Resulting in the greater presence of phenolic compounds, alkaloids and saponins. The experimental procedure for the evaluation of the antipyretic effect was carried out using 35 albino rats. They were divided into 5 groups: group I, II and III were administered the dry extract of *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel in 100 mg/kg, 200 mg/kg and 400 mg/kg respectively, group IV paracetamol® 150 mg/kg and group V distilled water 5 ml / kg as placebo. Before the administration of the experimental pyrogenic agent, the rectal temperature that constituted the basal temperature was measured; An aqueous suspension of 15% beer yeast was then administered as an exogenous pyrogenic agent. After 18 hours all the rats were used with an increase of 0.5 °C-1.0 °C over their basal temperature and in relation to the control group, from that time the extracts were administered. Subsequently, the rectal temperature was measured after 1, 2, 3, 4 and 5 hours of administration. After 1 hour, a reduction in temperature was observed in the rats that were administered the extracts and paracetamol, but also in the concentration of 200 and 400 mg/kg, the death of 1 and 5 rats occurs respectively. Among the three concentrations (100, 200 and 400 mg/kg) there is no significant statistical difference to what they refer to that have almost the same antipyretic effect without much difference between them since the temperature of the rats that have been treated by the extracts, will coincide at some point.

Key words: Tacsana, antipyretic effect, hydroalcoholic extract, fever.

INTRODUCCIÓN

Nuestra población indígena en el transcurso de los años se ha encargado de llevar a cabo prácticas de salud apoyada de sus conocimientos y experiencias, donde utilizan diversos procesos curativos. Actualmente el 88% de la población se inclina más por el uso de productos hechos a base de ingredientes naturales, según Barómetro de Biodiversidad. ¹

A diferencia de los medicamentos naturales, existen grupos de medicamentos farmacológicos como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los derivados anilínicos que presentan una gran variedad de efectos terapéuticos, como el efecto antipirético. Conocidos por poseer cantidades de reacciones adversas como es el caso del paracetamol, medicamento antipirético y analgésico, que en una investigación resultó ser responsable de ciertas reacciones adversas a nivel de la piel, necrólisis epidérmica tóxica y pustulosis exantemática generalizada aguda, e incluso causar la muerte. ²

Por tal motivo, es de suma importancia investigar y desarrollar innovadores agentes antipiréticos seguros a partir de plantas medicinales, como podría ser el caso de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana), planta oriunda de Huancavelica, que según usos tradicionales el extracto alcohólico de la madera es usado para bajar la fiebre intermitente, teniendo también otras propiedades como purgante. ³

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) con la finalidad de conocer las propiedades de esta especie y así aprovecharlas de manera productiva, en futuras investigaciones.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La fiebre en la antigua Grecia era considerada un signo beneficioso. Hipócrates y Galeno consideraban el uso de la fiebre como terapia, esta idea se mantuvo alrededor de 2000 años. Después de los experimentos de Claude Bernard, fisiólogo francés, que demostró la muerte de los animales al aumento de su temperatura de 5-6 °C y el uso del termómetro en la práctica médica, se dio inicio a cambios en las consideraciones de la fiebre, ya no como un beneficio si no como un signo. ⁴

En la actualidad, la fiebre es el motivo más frecuente de consulta de urgencia sobre todo en edad pediátrica y representa entre el 40% y 60%, pero algunos lo consideran como algo no tan grave e innecesario para acudir a un profesional médico, tomando así el camino más rápido que es la compra y consumo de los medicamentos que pertenecen al grupo los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y los derivados analgésicos (paracetamol). Los fármacos utilizados para la reducción de la fiebre se encuentran implicados con frecuencia en reacciones adversas, alergia y fenómenos de intolerancia medicamentosa. El uso combinado de fármacos aumenta el riesgo de toxicidad. ⁵

En un estudio se reveló que menores de 50 años que consumían paracetamol durante dos veces por semana, tenían un doble riesgo de sufrir pérdida de la audición, comparándolos con los que no consumían. Además, si habitualmente tomaban ibuprofeno u otros antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) en un transcurso mínimo de dos veces por semana, tenían dos tercios más de riesgo de sufrir la pérdida de audición. ⁶

Perú no es ajeno al alto consumo de AINEs. Ello se ve reflejado en distintos estudios del uso indiscriminado de estos, sobre todo por la venta libre en nuestro país, lo cual conlleva a posibles efectos indeseables y hasta complicaciones a niveles gástricos, hepáticos, respiratorios y renales, por lo que este trabajo pretende contribuir con el conocimiento de

otras alternativas como es la medicina natural para tratar el signo de la fiebre y disminuir el uso excesivo de AINEs.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

- ¿Tendrá efecto antipirético el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) en ratas albinas?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) que tendrán efecto antipirético en ratas albinas?
- ¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) con mayor efecto antipirético en ratas albinas?
- ¿Tendrá mayor efecto antipirético el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) comparado con el Paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas?

1.3. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo general.

- Determinar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) en ratas albinas.

1.3.2. Objetivos específicos.

- Determinar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) que presentan efecto antipirético en ratas albinas.
- Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) que presenta mayor efecto antipirético en ratas albinas.

- Comparar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) frente al paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas.

1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

En la actualidad la gran mayoría de los fármacos antipiréticos son adquiridos sin receta médica, debido a su uso indiscriminado pueden ocasionar múltiples reacciones adversas de gran importancia, motivo por el cual se busca conocer otras alternativas como es el uso de la medicina natural.

En las últimas dos décadas, los consumidores han optado por la búsqueda de medicamentos naturales y es por tal motivo que la industria farmacéutica internacional comenzó a producir una línea de productos basados en extractos estandarizados provenientes de especies vegetales y como consecuencia el interés a investigar, innovar, producir y comercializar medicamentos de origen natural ha incrementado.

La presente investigación tiene como prioridad demostrar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel para contribuir a futuras investigaciones añadiéndole conocimientos referentes a esta planta medicinal y sea de utilidad para la población.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.1.1. Nacionales

B. Herrera et al 2014, realizaron una investigación sobre el “Efecto cicatrizante del champú líquido de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) en ratones”. Esta investigación tuvo como objetivo determinar la efectividad del champú de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) como cicatrizante en lesiones realizadas a piel de ratones albinos. Se emplearon 36 ratones albinos con pesos de 30-35 g a los cuales se le aplicó lidocaína gel al 4 por ciento en la zona dorsal previa depilación para poder incitar a las lesiones en la piel del ratón. Para el diseño experimental se formaron VI grupos: Grupo I: Control negativo; Grupo II: Control positivo; Grupo III, Grupo IV y Grupo V: formulado al 10 por ciento; 20 por ciento; y 30 por ciento, respectivamente; Grupo VI: Pantene®. La aplicación del champú líquido fue administrada dos veces diariamente por catorce días seguidos. Se observaron en los resultados para el grupo 4 y 5 disminución de la piel lesionada al cuarto día, en el estudio histológico se observó un proceso de costras y restauración de la piel. Se concluyó que el champú líquido de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel en concentración de 30 por ciento, presenta efecto cicatrizante.⁷

S. Herrera 2017, en su trabajo de investigación “Efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) sobre la irritación inducida en piel de ratas”. Menciona que “Se utilizaron 30 ratas Holtzman (15 hembras y 15 machos), con pesos promedio de 142 - 100 g; establecidos en forma aleatoria mediante cinco grupos: champú I 50 mg/kg, champú II 250 mg/kg, champú III 500 mg de *Colletia spinosissima*, champú comercial y champú base (control). El extracto etanólico mostro existencia de metabolitos secundarios:

taninos, flavonoides, alcaloides, saponinas. Los resultados demostraron efecto protector antiinflamatoria de la planta (50 por ciento), $p < 0,05$ y cicatrizante (50 por ciento) $p < 0,05$ en la piel de ratas a través de estudios histológicos mostrando ausencia de signos de inflamación. Se concluyó que el extracto etanólico. Se concluyó que el extracto etanólico de la corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel en dosis de 500 mg/kg, presenta efectos cicatrizantes y antiinflamatorios; es antioxidante in vitro y no causa toxicidad en ratas”.⁸

R. Martínez 2014, en su trabajo de investigación “Estudio del efecto antipirético del extracto del kanacho (*Sonchus oleraceus* L.) en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) Arequipa – 2014”. Menciona que “El *Sonchus oleraceus* se utiliza tradicionalmente como antipirético. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antipirético del extracto mediante ratas de laboratorio para ello se las indujo a fiebre mediante la administración de levadura de cerveza. Se formaron cuatro grupos: administrándose dosis media de kanacho (500 mg/kg), dosis mayor (1000 mg/kg), paracetamol (500 mg/kg) como control positivo y suero fisiológico como placebo. Seguida a la administración se realizaron las medidas de la temperatura a las 0 horas (hora basal), 30, 60, 120 y 180 minutos. Se demostró que la dosis de 1000 mg/kg al día causa el mejor efecto antipirética”.⁹

D. Ccahuana et al 2016, en su trabajo de investigación “Evaluación del efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* (lloque) en animales de experimentación, Arequipa 2016”. El principal objetivo fue evaluar el efecto antipirético y antiinflamatorio del extracto de hojas de *Kageneckia lanceolata* utilizando ratas de raza Holtzman a través de un estudio pre clínico *in vivo*. La planta fue recolectada en el distrito de Carumas departamento de Moquegua y se obtuvo tres extractos de ello, utilizando solventes como hexano, acetato de etilo y etanol, el extracto con alto porcentaje de rendimiento fue el de etanol.

Mediante el método de cromatografía de capa fina se determinó la presencia de terpenos, taninos y flavonoides. Posteriormente se determinó el efecto antipirético para ello se administró por vía subcutánea levadura de cerveza (5 ml/kg) como agente pirógeno. Se formaron V grupos experimentales: control, extracto 200, 400 y 800 mg/kg; ácido acetilsalicílico (100 mg/kg). Después se midió la temperatura rectal 1, 2, 3, 4 horas. Para el efecto antiinflamatorio, mediante la inducción de un edema en la X aponeurosis plantar por medio de la administración de una suspensión de carragenina al 2 por ciento con dosis de 0.2 ml, como agente proinflamatorio. Finalmente se formaron V grupos: control, extracto de lloque a 200, 400 y 800 mg/kg; y el ácido acetilsalicílico con dosis de 100 mg/kg de peso. Se midió el volumen del tejido inflamado sumergiendo la pata en el pletismómetro digital, en tiempos de 1, 2, 4 y 6 horas. Se concluyó que el extracto de lloque con dosis de 800 mg/kg presenta efecto antipirético con moderada intensidad y las diferentes dosis del extracto no presentaron efecto antiinflamatoria.¹⁰

J. Valdivia 2013, en su trabajo de investigación “Evaluación del efecto antipirético de los extractos secos de las hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera) en animales de experimentación. Arequipa-2013”. En el estudio, se evaluó el efecto antipirético de las hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera) donde se utilizó tres extractos secos adquiridos de disolventes como benceno; acetato de etilo y alcohol etílico. Se seleccionó las hojas de la planta para el procedimiento de extracción, con el equipo de destilación Soxhlet. En el análisis fitoquímico se evidenció terpenos, taninos y; sólo en el extracto etanólico, se identificaron flavonoides. Se realizaron 3 pruebas preliminares, la primera es determinar la efecto de la levadura de cerveza como agente pirógeno exógeno, la siguiente prueba sirvió para determinar la dosis antipirética efectiva del paracetamol en los animales de experimentación; y finalmente la tercera para determinar la concentración de la probable dosis antipirética de los tres extractos. Se calculó que la dosis de 10 ml/kg de solución de

levadura de cerveza al 20 por ciento produce fiebre en los animales; se demostró un efecto antipirético con el extracto seco de benceno, acetato de etilo y alcohol etílico con una dosis de 500 mg/kg; y el paracetamol 500 mg/kg fue muy útil para el mismo fin. En esta investigación se utilizó 25 ratas machos distribuidos en 5 grupos: Grupo extracto benceno, acetato de etilo y etanólico, grupo control y grupo paracetamol. Primero se midió la temperatura basal, luego se administró la solución de levadura de cerveza al 20 por ciento vía SC para inducir a la fiebre; después de 15 horas se evidenció la fiebre en las ratas administrándose desde ese momento los extractos. Después de 2 horas se procedió a medir la temperatura rectal. El análisis final mediante la comparación estadística de grupos con un margen crítico de $p < 0.05$ de los tres extractos a una dosis de 500 mg/kg, frente a un grupo control y un grupo con paracetamol de 500 mg/kg; en ratas en estado febril experimental, resultó que el extracto de acetato de etilo tuvo mayor eficacia, cuyo efecto es comparable estadísticamente a la del paracetamol. Mientras que los extractos de benceno y alcohol etílico presentaron una eficacia menor. Lo cual no fue diferente estadísticamente comparado con el paracetamol.¹¹

2.1.2. Internacionales

M. Nisar et al 2007, realizaron una investigación sobre las “Efectos anticonceptivos y antipiréticos de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew”. La investigación se realizó en ratones adultos Wistar y Swiss albino con pesos de 50, 100 y 200 mg/kg de sexo indiferente. Para realizar la inducción de pirexia en los ratones se utilizó levadura de Brewer, seguido por la administración por vía oral del extracto de extracto metanólico de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew, demostrando alto efecto antipirético. Para el efecto analgésico periférico se realizó la prueba de retorcimiento inducida por ácido acético, demostrando efecto significativo en los ratones. Se realizaron pruebas fitoquímicas del extracto mediante procedimiento estándar, donde se encontró alcaloides,

antraquinonas, flavonoides, glucósidos, fenoles, resinas, saponinas y taninos. Se concluyó la validación de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew para el tratamiento del dolor y la fiebre por sus efectos antipiréticas y anti nociceptivas potentes”.¹²

Y. Pimpale et al 2011, realizaron una investigación sobre la “Efecto antipirética de la fracción flavonoide de la raíz de *Ziziphus jujuba* Mill”. Mencionan que “La suspensión acuosa de levadura de cerveza al 20 por ciento (p/v) se utilizó para la inducción de pirexia en ratas albinas por medio de la administración intramuscular. El efecto antipirético fue evaluado mediante la administración de la fracción de flavonoides de la raíz de *Ziziphus Jujuba* por vía oral con dosis de 25 y 50 mg/kg de peso comparándolo con paracetamol estándar (50 mg/kg). El estudio demostró la reducción significativa de la temperatura corporal en las ratas albinas, demostrando las afirmaciones tradicionales que lo usan como remedio para la reducción la fiebre”.¹³

R. Abdur et al 2016, realizaron un estudio sobre “CAM *Ziziphus nummularia* emergente con atributos sedantes-hipnóticos, antipiréticos y analgésicos in vivo”. Se realizó el estudio in vivo del extracto metanolico de la raíz de *Ziziphus nummularia* de la familia Rhamnaceae con el objetivo de verificar las propiedades de sus usos tradicionales como sedantes-hipnóticos, antipiréticos y sedantes. Se ensayaron diferentes fracciones del extracto en ratones albinos por campo abierto, el efecto antipirético se evaluó por medio de hipertemia inducida por levadura de cerveza (10 ml/kg) al 15 por ciento, utilizando paracetamol (100 mg/kg) como fármaco estándar y retorcimiento inducido por ácido acético para el efecto analgésico. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que el extracto de raíz de *Ziziphus nummularia* manifiesta considerables efectos sedantes-hipnóticos, antipiréticos y analgésicos en ratones albinos.¹⁴

Nisar M. et al 2007, presentaron el estudio ‘Actividades anti nociceptivas y antipiréticas de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew’. La investigación utilizó el procedimiento de Al-Ghamdi (2001) un modelo antipirético inducido con 10 ml/kg s.c. de solución acuosa al 15% de levadura en ratas wistar. Se utilizó Analgin 20 mg/kg como control positivo, solución salina como control negativo y por último las dosis de los extractos fueron 50, 100 y 200 ml/kg. Una vez que la levadura fue aplicada, se dejó pasar 24 horas para luego aplicar los extractos y posteriormente se realizó el registro de la temperatura rectal cada 0.5, 1, 1.5 y 2 horas. Los resultados obtenidos fueron que las dosis de 100 y 200 ml/kg presentaron un efecto antipirético con una diferencia significativa a comparación con la dosis de 50 ml/kg, que no presentó efecto. ¹⁵

S. Martinez et al 2004, realizó la investigación “Actividad diurética y antipirética de un extracto fluido de *Rosmarinus officinalis* L. en ratas” tuvo como objetivo evaluar el efecto diurético y antipirético del extracto fluido de *Rosmarinus officinalis* L. Las concentraciones que se utilizó fueron 100, 200, 400 mg/kg, los controles positivos fueron la furosemida 10 mg/kg y el analgin 25 mg/kg, el grupo control fue tratada con agua destilada, todo ello aplicado en ratas Wistar. Todos fueron distribuidos en grupos de 6 animales e inducidos a la fiebre con una solución de levadura disecada al 15 por ciento en cloruro de sodio al 0.9 por ciento. Los resultados revelaron que la actividad diurética se evidenció a dosis de 200 mg/kg y la actividad antipirética; a dosis de 400 mg/kg. ¹⁶

R. Hernández et al 2014, en su investigación “Actividad antipirética de un extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. en ratas de la línea Wistar como modelo experimental” tiene como objetivo comprobar el efecto antipirético del extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. utilizando el ensayo preclínico a doble ciego aleatorizado mediante la administración de la suspensión acuosa de la levadura de cerveza en cloruro de sodio al 0.9 por ciento como agente pirógeno externo.

Por otro lado, las ratas Wistar fueron divididas en 4 grupos de 8 animales, 3 grupos fueron administrados con el extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. a dosis de 200, 400 y 800 mg/kg y como grupo control positivo se usó el ibuprofeno 100 mg/kg. Como resultado se obtuvo que la dosis 400 mg/kg tuvo un efecto antipirético considerable comparado con el grupo control positivo.¹⁷

S. Martinez et al 2015, en su trabajo de investigación “Actividad antipirética del producto natural Noni-C”. Mencionan que “El objetivo fue evaluar el efecto antipirético mediante un modelo experimental utilizando conejos. Se emplearon 30 conejos masculinos con pesos entre 2,2 – 2,5 kg. Para la inducción de fiebre se utilizó levadura desecada en cloruro de sodio al 20 por ciento. Los conejos fueron distribuidos al azar en 5 grupos: Al grupo I se le inoculó Cloruro de Sodio 0,9 por ciento, al grupo II ibuprofeno (100 mg/kg). A los grupos III, IV y V se les administró Noni-C en dosis de 200, 400 y 800 mg/kg correspondientemente. Culminado el tratamiento se midió la temperatura basal rectal en tiempos de una, dos, cuatro y seis horas. Se concluyó administrado por vía oral muestra actividad antipirética a dosis de 400 y 800 mg/kg”.¹⁸

Hajare. S et al 2000, en su investigación “Actividades analgésicas y antipiréticas de las hojas de *Dalbergia sisso*”. En el estudio se utilizó la planta secada oriunda de la india, donde se procedió a macerarlo con etanol y luego se extrajeron calentando a reflujo. La parte experimental fue realizada en ratas donde se le indujeron a fiebre mediante la inyección de 20 ml/kg (sc) de una suspensión acuosa al 20% de levadura de cerveza en solución salina normal por debajo de la nuca, la temperatura rectal fue medida antes de ser aplicada y después de 18 horas. Se administró los extractos a dosis de 150 y 300 mg/kg, como control positivo se usó al fármaco aspirina. Las temperaturas fueron registradas por un periodo de 6 horas, teniendo como resultado que a 100 y 300 mg/kg se produjo una actividad antipirética significativa ($P < 0.05$ y $P < 0.01$,

respectivamente) y por otro lado la dosis a 1000 mg/kg junto con el fármaco estándar mostraron una actividad antipirética significativa en todo el período de experimentación hasta 6 horas. ¹⁹

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Tacsana (*Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel)

2.2.1.1. Descripción botánica

Arbusto de 0.5- 1 m de altura, que presenta una ramificación desde la base con espinas resistentes muy puntiagudas; son reconocidas por las pequeñas flores color blanco-rojizas y sus frutos tricapsulares.

Las ramas más jóvenes y delgadas con una sección circular con diámetro de 4-8 mm, verduzcas, lisas y brillantes en su superficie; están subdivididas en forma dicotómica, terminando en una espina muy afilada con longitud de 1-3 cm y el diámetro de 2-3 mm, con punta córnea de longitud 1-3 mm color rojiza. Presentan hojas únicamente en las ramas jóvenes con brotes tiernos, simples y opuestas de 5-10 mm de longitud, 5-7 mm de ancho, con borde finamente aserrado y una punta redonda, brillantes. Presenta una inflorescencia axilar, agrupadas en forma de fascículos y constituida por 3 a 5 flores, de las cuales son hermafroditas, actinomorfas, que poseen 5 pétalos de 7 mm de longitud y 6 mm de ancho. Los tépalos son color rojizo, soldados y sujetos en 5 dientes curvados, tiene los estambres con unas anteras en forma de riñón de 1 mm de longitud con dehiscencia longitudinal, el ovario supero en forma de rombo con 3 carpelos y un estilo de 6 mm de longitud, el estigma con 3 lóbulos con diámetro de 0.5 mm cada uno. Con frutos verduzcos y brillantes, cada cápsula con diámetro de 4 mm con una semilla lisa y color negro. ²⁰

2.2.1.2. Distribución botánica

Esta especie se encuentra distribuida desde Ecuador hasta Chile, Argentina y Perú, en todo el ande se encuentra a una altura de 1500-4000 msnm (Brako y Zarucchi, 1993). Se desarrolla en declives perturbadas, degradadas y rocosas, próximo a los caminos y cultivos.²⁰ En Perú, se manifiesta desde Piura hasta Puno y probablemente envuelve toda la sierra con una altitud aproximadamente de 2.000 y 4.200 msnm.²¹

2.2.1.3. Clasificación taxonómica

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rhamnales

Familia: Rhamnaceae

Género: *Colletia*

Especie: *C. spinosissima* L.J.F. Gmel

Nombres comunes: Tacsana (Quechua: "para lavar"), brusca.²⁰

2.2.1.4. Principios activos

Los principios activos son sustancias químicas que le otorgan a la droga vegetal una actividad farmacológica y un uso terapéutico. Una droga puede contener principios activos antagónicos (presentan efectos contrarios) o principios activos sinérgicos (cuando se administran juntos, potencian el efecto).

En un estudio fitoquímico del extracto etanólico de la corteza y de los brotes tiernos de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) indica la existencia de los siguientes metabolitos secundarios o principios activos como las saponinas, flavonoides, taninos, alcaloides, carbohidratos y compuestos fenólicos. Por otro lado, se han encontrado otros principios activos tal como flavonoides, saponinas, glucósidos, de las cuales las más resaltantes son la glucosa, ramosa, galactosa y xilosa (Ferreira, 1979).²²

Metabolitos secundarios

Saponinas: Son heterósidos capaces de producir espuma cuando se coloca en una solución acuosa que las contiene y son tensoactivos naturales ya que minimizan la tensión superficial del agua. Las saponinas se encuentran distribuidas en cualquier órgano de la planta, pero presenta mayor concentración en las partes subterráneas (raíz, rizoma). En las dicotiledóneas hay principalmente saponinas triterpénicas y a veces se encuentran las saponinas esteroídicas, mientras que en las monocotiledóneas hay presencia de las saponinas triterpénicas y el número de saponinas esteroídicas es regular.

Las saponinas están compuestas por una parte glucídica (azúcar) y otra parte no glucídica (aglicón) llamada sapogenina, la clasificación de las saponinas va a depender de la cantidad de azúcar que está unida al aglicón y también a la naturaleza del aglicón ya sea triterpénico o esteroídica. Dentro de sus propiedades se encuentran que tiene un poder hemolítico donde la toxicidad será mínima cuando se administre por vía oral, y por ser heterósidos son solubles en agua y en disolventes polares (etanol, metanol) e insolubles en los disolventes orgánicos apolares (éter de petróleo, cloroformo, hexano).²³

Flavonoides: Son compuestos fenólicos encontrados en vegetales, semillas, frutas y también en vinos y cervezas. El valor medio de consumo de los flavonoides se estima como 23 mg/día, considerando que la quercitina tiene un valor medio de consumo es 16 mg/día. Los flavonoides tienen una actividad antioxidante donde se elimina los radicales libres; varios estudios sugieren que a altas dosis tiene un efecto prooxidante y a la vez confirman su efecto antiinflamatorio, antiviral, antialérgico y un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares u otras. Los flavonoides están en frutas, verduras, semillas y flores como también en son encontradas en extractos de plantas como arándanos, ginkgo biloba, cardo. En las hojas y en la parte exterior de las plantas se ubican los flavonoides; se han reconocido más de 5.000

flavonoides, de las cuales se tiene a los citroflavonoides, isoflavonoides, proantocianidinas, antocianidinas, ácido elágico, catequina, Kaemferol.²⁴

Taninos: Están compuestos por un gran grupo de compuestos hidrosolubles capaces de precipitar con ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina), lo cual le da una actividad astringente y un poder de curtir la piel, es decir convertir la piel en cuero, debido a que tiene la capacidad de unirse a las macromoléculas. Los taninos tienen la capacidad de generar una reacción con las glucoproteínas y las proteínas salivales, la cual genera la pérdida del poder lubricante y se produce un efecto astringente. Al ser astringentes son usados por vía externa para la cicatrización y la precipitación de proteínas de la piel; por vía interna como antidiarreicos donde son aplicados conjuntamente con albúmina o gelatina para evitar cualquier fastidio a nivel del estómago.

También es usado como antídoto en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides, ya que tiene el poder de formar estructuras complejas con estas sustancias. Son antioxidantes y protectores de agentes externos a nivel de la piel; favorece la regeneración epitelial por su efecto hemostática.

Dentro de su clasificación esta los taninos hidrolizables y los taninos condensados, de las cuales son usados como antídotos en intoxicaciones por metales pesados, antisépticos, protectores, antioxidantes, hipocolesterolémico, astringentes.

- Taninos hidrolizables: Son esterres que están formados por una molécula de azúcar (usualmente la glucosa) con moléculas de ácidos fenólicos (ácido gálico o el dímero el ácido elágico). Estas moléculas están presentes en las dicotiledóneas, se hidrolizan por hidrólisis ácida o básica y también en hidrólisis enzimática. Al momento de tratarlos con cloruro férrico se da una coloración azul.
- Taninos condensados: Son dímeros o polímeros flavónicos con uniones carbono-carbono y forman por la polimerización de las

catequinas y leucoantocianos. Los taninos condensados se encuentran en las dicotiledóneas, gimnospermas y en los helechos.

Alcaloides: Son sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico y la mayoría de origen vegetal que se forman a partir de aminoácidos. Presentan una estructura muy compleja con nitrógeno heterocíclico y tiene una actividad fisiológica a dosis muy bajas. Los alcaloides se encuentran mayormente en los vegetales superiores y no en los inferiores como los gimnospermas y las monocotiledóneas, sin embargo, dentro de las angiospermas, las dicotiledóneas (solanáceas, papaveráceas, rubiáceas, apocináceas y otras) contienen una alta cantidad de alcaloides.

La clasificación se produce en base a dos aspectos que es la estructura y el origen biosintético, de las cuales se clasifican en dos grupos: Alcaloide con nitrógeno no heterocíclico y alcaloide con nitrógeno. Los alcaloides son sustancias muy tóxicas que por consiguiente se deben tomar precauciones extremas al momento de usarlo terapéuticamente.²³

Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos son moléculas que junto con las vitaminas tienen un poder antioxidante y estos se encuentran en las frutas, hortalizas, raíces y cereales. En las plantas, cumplen funciones metabólicas como el crecimiento, reproducción, protección contra patógenos externos y son los encargados de brindarles color.

La estructura de los compuestos fenólicos está constituida por al menos un núcleo bencénico que está unido a uno o más grupos hidroxilos, la cual se encuentra libre o formando parte de un éter, éster o heterósido.²⁵ Los compuestos fenólicos proceden de dos vías: la más utilizada es la vía shikimato, ya que da origen a la producción de los compuestos fenólicos en las plantas; una serie de reacciones se inician con el ácido fosfoenolpirúvico y eritrosa-4-P, y como resultado se obtiene derivados aminoácidos aromáticos (tirosina, fenilalanina y triptófano). La ruta del ácido malónico, es muy utilizada como fuente de fenoles en bacterias y hongos a comparación de las plantas superiores. La formación del ácido

cinámico se da por eliminación del amonio de la fenilalanina con ayuda de la enzima fenilalanina amonio liasa y las posteriores reacciones son por la integración de grupos hidroxilos y entre otros constituyentes. El ácido caféico y ácido ferúlico son los iniciadores de las cumarinas, taninos, isoflavonoides, ligninas y flavonoides.²⁶

2.2.1.5. Usos

En medicina tradicional, la infusión de las ramas es usada para la indigestión, y la decocción de la corteza es usada como antipirético y astringente. Los tallos frescos son para el dolor de los dientes, y molidos en emplastos son para las fracturas y luxaciones (De Lucca y Salles, 1992; Delgado, 1995; AEDES, 1998).²⁰

El extracto alcohólico de la madera es usado contra la fiebre intermitente, a ello agregarle que también tiene una actividad purgante. Para limpiar la lana se usa la cáscara de las raíces, que produce espuma, lavados con ella queda como nuevo la lana. La madera del tronco son empleados para hacer camas, rayos, pértigos, cabos de herramientas, etc.²⁷

La madera es un buen combustible y es considerado para la elaboración de mangos de herramientas, utensilios y partes de aperos de labranza tradicionales (Reynel y León, 1990b; Kolff y Kolff, 1997; Mostacero et al., 2002). Se usa como sustituto del jabón, ya que todas las partes de la planta sumergidas en agua desprenden saponinas (Reynel y León, 1990b).

En agroforestería tradicional, es usada como cercos protectores (espinosos) para la protección de cultivos y viviendas (Reynel, 1988; AEDES, 1998). Es una especie con capacidad nitrificante, ya que ayuda a mejorar los suelos (Reynel y León, 1990b). Por otro lado, la planta triturada es usado para el lavado y fijación final de los colores (Reynel y Felipe-Morales, 1987).²⁰

2.2.2. Fiebre

2.2.2.1. Definición

Los médicos clínicos lo definen como una temperatura mayor a 38 °C en cualquier momento del día, se considera que la temperatura normal del cuerpo es de 37 °C, pero este valor es variable ya que dependerá de la temperatura ambiental que es baja en las mañanas alrededor de las 6:00 am y las más altas se da a las 4 o 6 pm. La temperatura corporal se modifica en respuesta a las condiciones como la actividad física y también el clima.²⁸

Considerando que la temperatura media en el organismo, en relación a individuos sanos en la edad mediana es de 36.8 +/- 0.4 °C, este puede lograr tener un valor mínimo a las 6:00 horas y un máximo entre las 16:00 y 18:00 horas. Esta diferencia de valores es llamada ritmo cardiaco que en ciertos casos puede ser de 1 °C de desigualdad, como se da en las infecciones y procesos febriles.

Esta desigualdad se mantiene habitualmente, cuando los agentes pirógenos externos se mantienen en los niveles circulantes en el transcurso del día; pero esta desigualdad se ausenta en la hipertermia, donde se produce una elevación de la temperatura.

Los grados de temperatura considerados como fiebre son las siguientes:

- Temperatura axilar: > 37,4 °C
- Temperatura rectal: > 38 °C
- Temperatura oral: > 37,6 °C
- Temperatura timpánica: > 37,6 °C.²⁹

2.2.2.2. Termorregulación

La termorregulación es un sistema responsable de mantener constante la temperatura del medio interno. Este sistema se encuentra compuesto por tres componentes:

- a) Vías aferentes termoceptivas: Diferentes sistemas recogen la información térmica y lo llevan a los centros de integración, en la cual existen 2 modalidades de naturaleza física o química. Los receptores físicos son sensibles a las variaciones de la T°

local y se encuentran ubicados principalmente en la piel, el sistema cardiovascular (especialmente cavidades cardíacas y grandes vasos), riñones, hígado, pulmones, y su función es dirigir la información de la variación de la temperatura a los centros reguladores mediante la vía nervios periféricos.

Los receptores químicos se encuentran localizados en los nervios periféricos (somáticos y viscerales) y son estimulados por algunas moléculas de origen exógena y endógena. Estas moléculas se clasifican en 2 grupos: La molécula pirógena, tiene el poder de modificar y elevar la temperatura corporal en los centros reguladores, puede ser de manera exógena (microorganismos infecciosos) y endógena (citoquinas inflamatorias: citoquinas IL-1, IL-6, TNF alfa y el INF gamma).

La molécula criógena es capaz de modificar y disminuir la temperatura corporal en los centros reguladores, dentro de ellos se encuentran los corticoides, TSH, ACTH (hormona adrenocorticotropa), etc. Los criógenos llevan la información de muchas maneras a los centros reguladores, entre ellas: La penetración de la barrera hematoencefálica (BHE) y así estimula las neuronas de los centros reguladores, la estimulación de los receptores de nervios periféricos esplácnicos y somático para luego dirigirse a los centros reguladores, la producción de la prostaglandina E2 en la cual atraviesa la BHE y estimula a las neuronas de los centros reguladores.

- b) Vías eferentes termoelectoras: Cuando el sistema nervioso, sistema inmunitario, sistema cardiovascular, sistema musculosquelético, tejido adiposo, sistema endocrino, piel interactúan entre si van a permitir que la T° se reduzca o se eleve de acuerdo a los centros reguladores. El mecanismo de termogénesis se produce en: El aumento de la tasa metabólica basal, Contracciones rítmicas involuntarias del músculo esquelético, Incremento de la lipólisis en el tejido graso multilocular. El mecanismo de termólisis se produce en: La

vasodilatación cutánea, incremento de la sudo, incremento del flujo sanguíneo, taquipnea, búsqueda consciente de espacios fríos.

La termorregulación puede presentar alteraciones como la hipotermia (T° central bajo los 35°C), hipertermia (T° central superior a $36.8 + 0.5^{\circ}\text{C}$) y la fiebre.³⁰

- c) Vías eferentes termo efectoras: Cuando el sistema nervioso, sistema inmunitario, sistema cardiovascular, sistema muscuoesquelético, tejido adiposo, sistema endocrino, piel interactúan entre si van a permitir que la T° se reduzca o se eleve de acuerdo a los centros reguladores. El mecanismo de termogénesis se produce en: El aumento de la tasa metabólica basal, Contracciones rítmicas involuntarias del músculo esquelético, Incremento de la lipólisis en el tejido graso multilocular. El mecanismo de termólisis se produce en: La vasodilatación cutánea, incremento de la sudo, incremento del flujo sanguíneo, taquipnea, búsqueda consciente de espacios fríos.

La termorregulación puede presentar alteraciones como la hipotermia (T° central bajo los 35°C), hipertermia (T° central superior a $36.8 + 0.5^{\circ}\text{C}$) y la fiebre.³⁰

2.2.2.3. Clasificación:

La fiebre se clasifica por lo general de acuerdo a su intensidad, y a su distribución temporal:

- a) Según la intensidad: De acuerdo a la OMS, la fiebre se clasifica en:

- Febrícula: 37 a 38°C .
- Fiebre: 38 a 41°C .
- Hiperpirexia: $> 41^{\circ}\text{C}$.

- b) Según la duración total del síndrome febril:

- Agudo (< 1 semana): Se relaciona con la fiebre viral y los procesos de las infecciones vía respiratorias altas.

- Subagudo (1-3 semanas): Se relaciona con las infecciones bacterianas (fiebre tifoidea, colecciones intraabdominales)
- Crónico (> 3 semanas): Se relaciona con infecciones de predominio crónico como TBC, brucelosis, VIH.

c) Según la distribución temporal:

- Continua: La temperatura se mantiene constante durante todo el síndrome febril, con una variación entre máximo y el mínimo de $<1^{\circ}\text{C}$. Tiene relación con la neumonía por gramnegativos, tifus, meningitis bacteriana, ITUs.
- Remitente: La temperatura se mantiene constante durante todo el síndrome febril, con una variación entre máximo y el mínimo de $> 1^{\circ}\text{C}$. Tiene relación con endocarditis, rickettsias, brucelosis.
- Intermittente: La temperatura no se mantiene elevada durante todo el síndrome febril, hay una alternación entre cuadros febriles y cuadros no febriles lo cual puede existir una alteración de dos días
- Recurrente: La temperatura no se mantiene elevada durante todo el síndrome febril, hay una alternación entre cuadros febriles y cuadros no febriles donde puede haber una alteración de 3-10 días de cuadros febriles continuado de otros 3-10 días de cuadros no febriles.

2.2.2.4. Etiología

Existe una posibilidad que la fiebre comience con la síntesis de pirógenos endógenos, creados por diferentes situaciones que pueden dividirse en varios grupos:

- Infecciones a causa de las bacterias, virus y parásitos
- Anormalidades inmunológicas e inmunodeficiencia adquirida
- Destrucción de tejidos durante necrosis local y reacciones inflamatorias en los tejidos y vasos (flebitis, arteritis)
- Inflamaciones específicas: sarcoidosis, hepatitis granulomatosa
- Procesos neoplásicos, también durante la complicación de los tumores sólidos y en la metástasis relacionada con necrosis del tumor.

- Fallas metabólicas agudas: artritis úrica, porfiria, crisis de Addison, crisis tirotóxica y feocromocitoma.
- Deshidratación o la administración de sales (motivo por el cual la fiebre aparece con la diarrea). ²⁸

2.2.2.5. Fisiopatología

La producción de la fiebre se da con la IL1 en el área pre óptica en el hipotálamo anterior, la cual contiene neuronas termos sensibles ubicados dentro de la pared rostral del tercer ventrículo. A este sitio se le denomina organum vasculosum laminae terminalis (OVLT) y es una interfaz entre la circulación y el cerebro.

La entrada de la IL 1 al espacio perivascular del OVLT desencadena la producción de las prostaglandinas E2 (PGE2) en el área pre óptica del hipotálamo anterior causando la fiebre. El OVLT no es la única entrada de los pirógenos, también se encuentran las células endoteliales y perivasculares que representan a un sistema de órganos circunventriculares en la barrera hematoencefálica donde las citoquinas pirógenas transforman a las prostaglandinas E2. Este sistema de órganos circunventriculares están compuestos por pequeñas neuronas y su función es permitir la comunicación entre la sangre y las neuronas del hipotálamo.

La formación de las prostaglandinas E2 se inicia cuando las citoquinas pirógenas circulantes son detectadas por los órganos circunventriculares. Como consecuencia se da el aumento de la PGE2 en el hipotálamo generando la fiebre.

En respuesta a esto, las fibras eferentes comienzan con la conservación del calor mediante la vasoconstricción y la producción del calor con contracciones musculares. El incremento de la temperatura continúa hasta que la temperatura corporal se acerca a la temperatura del punto de ajuste elevado a nivel del hipotálamo. Al momento de administrarse los antipiréticos o bajan los niveles de las prostaglandinas E2, el punto de ajuste se reestablece de nuevo. Las PG2 desempeñan una retroalimentación negativa sobre la liberación de las IL1, con ello tienden a bloquear los mecanismos que inician a

la fiebre. Además, la vasopresina también ayuda a reducir los pirógenos del SNC.

La nivelación de la temperatura se da con la vasodilatación y el sudor mediante el incremento supervisado del flujo sanguíneo a la piel.³¹

2.2.2.6. Tratamiento

La fiebre incluye tratamientos basados en métodos físicos y los propios medicamentos usados para ello. Si existe evidencia avalada los tratamientos no farmacológicos son importantes. Los métodos físicos para tratar la fiebre, son frecuentemente utilizados por ser económicos y fácilmente accesibles, pero no está claro si son beneficiosos, especialmente cuando se los compara con los fármacos antipiréticos comunes.

2.2.2.6.1. Tratamiento físico

El uso de recursos físicos como el baño con agua tibia ayuda a disminuir levemente la temperatura corporal la cual se encuentra asociada con escalofríos y malestares, pero a comparación del uso de los fármacos, los medios físicos no parecen ser tan ventajoso. Está prohibido usar el agua fría o alcohol ya que puede obstruir la vasodilatación, necesaria para eliminar el calor, y en cuanto al alcohol este es absorbido por la piel y causar toxicidad.³¹

2.2.2.6.2. Tratamiento farmacológico

El uso de antipiréticos en niños es usado con mucha frecuencia ya que son automedicados por los padres de familia, por lo que es primordial crear conciencia sobre el uso racional de estos medicamentos. Los antipiréticos actúan bloqueando a la enzima ciclooxigenasa, responsable de la conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y leucotrienos, conllevando a la

producción de una serie de respuestas fisiológicas como el incremento del flujo sanguíneo en la piel y la inevitable pérdida de calor por radiación, convección y evaporación.³⁰ Uno de los antipiréticos más usado es el paracetamol.

2.2.2.7. Paracetamol

El paracetamol es un fármaco utilizado como analgésico y antipirético. Es un derivado de la anilina (para-aminofenol) y uno de los metabolitos de la fenacetina (N-acetil-para-aminoetoxifenil).

2.2.2.7.1. Mecanismo de acción

En la actualidad no se define un mecanismo de acción analgésica del paracetamol. El paracetamol presenta una débil efecto inhibitoria de la COX, y selectiva para la inhibición de la COX en el sistema nervioso central (cerebro y médula espinal), por ello no tiene efecto antiinflamatorios periférica, no altera la función plaquetaria, pero si es activo sobre la percepción del dolor y sobre los mecanismos termogénicos.

En la actualidad se han descrito 3 isoformas de la COX, que justifican las diferencias farmacológicas que existen entre el paracetamol, los AINEs y los inhibidores selectivos de la COX-2. La COX-1 se considera la isoenzima constitutiva tisular, responsable de los efectos fisiológicos de las prostaglandinas. La COX-2 se expresa en los procesos inflamatorios, dando lugar a las manifestaciones del dolor y de la fiebre, por ello al inhibirlo produce efecto antiinflamatorio y analgésico. La COX-3 parece ser la isoforma constitutiva del sistema nervioso central, y la diana específica del paracetamol, aunque no es una isoforma codificada en un gen distinto como la

COX-2. El paracetamol es un inhibidor débil, aunque parece que selectivo, de la COX-3.

El mecanismo de acción antipirético del paracetamol se basa en la inhibición de la síntesis de PGE2, dependiente de la efecto de la COX, en el centro hipotalámico regulador de la temperatura. A este a nivel, la reacción pirogénica se debe a la estimulación de la síntesis del pirógeno endógeno PGE2 por parte de la interleucina 2 (IL-2), ello produce una regulación al aumento de la temperatura corporal, basal. En condiciones normales de la temperatura corporal, el paracetamol no produce hipotermia, solo lo realiza cuando la temperatura corporal se encuentra aumentada. Su efecto realiza una reducción del valor termostático corporal, activando los fenómenos de disipación del calor mediante la vasodilatación cutánea y el aumento de la sudoración.³²

2.2.2.7.2. Farmacocinética

La administración del paracetamol es por vía oral. La absorción tiene relación con la velocidad del vaciamiento gástrico y suelen alcanzarse concentraciones sanguíneas máximas entre los 15 minutos y 1 hora. La unión a las proteínas plasmáticas es mínima y se degrada de forma parcial por acción de las enzimas microsómicas hepáticas, con conversión a sulfato y glucuronidato de paracetamol, que son inactivos farmacológicamente.

Un 90-95% de la dosis se metaboliza en el hígado, mayormente mediante conjugación, para luego excretarse por orina.³³

2.2.2.7.3. Indicaciones

El paracetamol es posiblemente el fármaco más utilizado para el tratamiento sintomático de los cuadros de dolor leve y moderado y de la fiebre. Las indicaciones del

paracetamol como analgésico son los dolores agudos o crónicos de leve intensidad a moderada sin componente inflamatorio, incluyendo la dismenorrea, cefaleas, el alivio del dolor en las artrosis y lesiones de tejidos blandos, la migraña aguda y en el dolor postoperatorio. La otra indicación, es el tratamiento de la fiebre, de forma especial en niños, y en casos en que la causa sea una infección. Es el fármaco de elección para el tratamiento de la fiebre.³³

2.2.2.7.4. Efectos adversos

A dosis terapéuticas puede ocurrir de manera ocasional un aumento de las enzimas hepáticas en ausencia de ictericia, reversible una vez retirado el fármaco. A dosis mayores se pueden observar mareo, excitación y desorientación. La ingestión de 15 g de paracetamol puede ser letal, por hepatotoxicidad grave con necrosis centrolobulillar, algunas veces vinculada con una necrosis tubular aguda renal. Actualmente se indica que la administración de 4 a 6 g de paracetamol incrementa las anomalías de las pruebas de función hepática. Se han presentado casos de daño renal sin afectación hepática, incluso después de dosis habituales de paracetamol. Se puede dar en raras ocasiones alteraciones adversas como la anemia hemolítica y la metahemoglobinemia. La nefritis intersticial y la necrosis papilar, graves complicaciones del uso de la fenacetina, no han ocurrido con el paracetamol ni tampoco la hemorragia gastrointestinal. Se requiere tener precaución en pacientes con cualquier tipo de hepatopatía.³³

2.2.2.7.5. Dosificación

El dolor agudo y la fiebre pueden tratarse de modo eficaz con 325 a 500 mg de paracetamol cada 6 h y, de manera

proporcional, menos en niños. Actualmente se recomienda administrar menos de 4 g/día en los adultos en la mayoría de los casos.³³

2.2.2.7.6. Toxicidad

La ingestión aguda de más de 150 a 200 mg/kg (niños) o 7 g en total (adultos) se considera potencialmente tóxica. Se produce un metabolito muy tóxico en el hígado. Inicialmente, el paciente se encuentra asintomático o tiene trastornos digestivos leves (náusea y vómito). Luego de 24 a 36 h, aparecen datos de lesión hepática con elevación de las concentraciones de aminotransferasa e hipoprotrombinemia. En los casos graves, ocurre insuficiencia hepática fulminante, que desencadena encefalopatía hepática y muerte. También se presenta insuficiencia renal. Se valora la gravedad de la intoxicación con base en la concentración sérica de paracetamol. Si la concentración es mayor de 150 a 200 mg aproximadamente 4 h después de la ingestión, el individuo corre el riesgo de sufrir una lesión hepática. El antídoto utilizado en caso de intoxicación por paracetamol es la acetilcisteína que funciona como sustituto del glutatión, fijando el metabolito tóxico a medida que se produce. Es muy eficaz cuando se administra en las primeras etapas y debe iniciarse al cabo de 8 a 10 h, de ser posible.³³

2.3. HIPÓTESIS

2.3.1. Hipótesis general:

- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) tiene efecto antipirético en ratas albinas.

2.3.2. Hipótesis específicas:

- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) presenta metabolitos responsables del efecto antipirético en ratas albinas.
- Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) que presenta mayor efecto antipirético en ratas albinas.
- Existe un mayor efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) comparado con Paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas.

2.4. VARIABLES

- **Variable independiente:**

Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana)

- **Variable dependiente:**

Efecto antipirético.

2.4.1. Tabla de Operacionalización de Variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICION	DIMENSIONES	INDICADORES
V.I Extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana)	Producto obtenido de la corteza de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana)	Fitoquímico	Identificación de metabolitos Concentración a determinar: 100 mg/kg 200 mg/kg 400 mg/kg
V.D Efecto antipirético.	Efecto del producto en estudio sobre las ratas albinas	Farmacológico	Medición de la temperatura

2.5. MARCO CONCEPTUAL

- a) **Antipirético:** Todo fármaco que hace disminuir la fiebre.
- b) **Farmacocinética:** Es la ciencia que estudia el transito del fármaco por el organismo en el transcurso del tiempo.
- c) **Efecto farmacológico:** Cualquier cambio producido en el organismo después de la administración de dosis normales de un fármaco. Puede ser de dos tipos principales o beneficiosos e indeseables o adversos. (Terapéutico, Sistémico y Tóxico)
- d) **Efecto Antipirético:** Es la capacidad de reducción de fiebre por el efecto de un recurso físico, natural o farmacológico.
- e) **Extractos hidroalcohólicos.** Son productos que se obtienen de la extracción de la planta con una dilución de alcohol y agua, que permiten una buena obtención de principios activos, donde debe ser conservada en una concentración mayor al 15% del alcohol, para evitar la presencia de microorganismos.
- f) **Pirógeno:** Sustancia que produce fiebre.
- g) **Corteza:** Es la parte externa de la raíz, tallo y las ramas de las plantas leñosas y los arbustos, esta se encuentra compuesta por capas de fibra vegetal dura.
- h) **Metabolito secundario:** Son los compuestos que son producidos por el organismo de la planta y que no tienen una función directo en el crecimiento o reproducción del mismo.
- i) **Reacción adversa:** Es una reacción nociva no intencionada que se presenta a dosis frecuentemente usadas en el ser humano para profilaxis, diagnóstico o tratamiento o para cambiar las funciones fisiológicas.
- j) **Mialgia:** Es una sensación dolorosa aguda, convulsiva que afecta a un músculo.
- k) **Hiperpirexia:** Trastorno profundo del mecanismo de la regulación de la temperatura, que se caracteriza por fiebre alta y colapso, a veces, por convulsiones, coma y muerte.

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. TIPO DE ESTUDIO

Esta investigación es de tipo aplicada ya que es experimental, en donde se adulterará la variable independiente que corresponde al extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) y como resultado será afectado la variable dependiente, el efecto antipirético. Asimismo, se determinará la concentración donde el extracto producirá el efecto deseado, por lo tanto, será de enfoque cuantitativo.

3.2. DISEÑO A UTILIZAR

El diseño de la investigación será de tipo: experimental, es decir se manipulará las variables y se trabajará con grupos experimentales y grupos controles. Adicionalmente, será un estudio longitudinal ya que la medición de temperatura de cada unidad muestral se realizó en más de una oportunidad.

3.3. POBLACIÓN

Treinta y cinco ratas albinas machos de la cepa Holtzman, con un peso de 180g - 220g con dos meses de edad, provenientes del Instituto Nacional de Salud.

3.4. MUESTRA

Divididas en siete grupos, cada grupo conformada por cinco ratas.

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.5.1. Técnicas

- **Recolección:** La recolección de especies vegetales será en base a las características de cada especie. Se puede lograr de forma manual o mecanizada, si es manual el proceso es lento y poco rentable, pero es mucho más selectivo. La calidad y cantidad del principio activo dependerá del tipo de recolección que se da, esto está condicionado por cuatro factores en general que es la edad de

la especie vegetal, el estadio del vegetal, la época del año, y también el momento del día que será recolectada. En el caso de las cortezas, deben ser recolectadas poco antes o cuando empieza el proceso vegetativo, haciendo referencia a las estaciones climáticas del verano y la primavera que son momentos adecuados donde existe una mayor circulación de la savia.

- **Extracción con disolvente:** Se realiza al poner en contacto la droga con un disolvente que tenga la capacidad de solubilizar los metabolitos secundarios, en la cual los metabolitos pasan de la planta hacia el disolvente obteniendo así el extracto líquido. Luego el extracto líquido debe pasar por un proceso donde se elimine el mayor o menor cantidad del disolvente. Este tipo de método es utilizado con mayor frecuencia para la obtención de los metabolitos secundarios.

Para tener una buena extracción se debe tener en cuenta los siguientes factores: Características de la droga, naturaleza del disolvente, la temperatura, el tiempo de contacto entre la droga y el disolvente y el control de la difusión celular.

- **Screening fitoquímico:** El screening fitoquímico o tamizaje fitoquímico permite determinar de manera cualitativa los grupos químicos situados en la planta y así poder realizar una adecuada extracción y/o fraccionamiento del extracto, separando el grupo de mayor importancia a estudiar. Los resultados de este procedimiento es parte de una orientación al estudio ya que la interpretación completa de los resultados se realizará conjuntamente con la actividad farmacológica de la planta.

3.5.2. Instrumentos de recolección de datos:

El instrumento a utilizar fue la Ficha de observación, con la finalidad de recolectar los datos del estudio fitoquímico.

3.5.3. Materiales, reactivos y equipos:

Materiales

- Frascos ámbar
- Baguetas de vidrio
- Embudo de vidrio
- Placas Petri
- Vaso de precipitados
- Tubos de ensayo
- Luna de reloj
- Mortero
- Papel filtro
- Sonda orogástrica
- Jeringa de 5 ml
- Pipetas de plástico

Equipos e instrumentos

- Balanza analítica Marca aerolab (Modelo XY-33000-1BF)
- Cocinilla eléctrica
- Estufa
- Mechero Bunsen doble cilindro AE022A
- Termómetro digital RI-GITAL (Marca RIESTER)

Reactivos: Los reactivos utilizados son grado químicamente puro (QP):

- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Gelatina
- Reactivo de FeCl_3
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Shinoda
- Reactivo de Borntrager
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Liebermann – Burchard

- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Benedict
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Suero fisiológico
- Ciclo hexano
- Diclorometano
- Cloroformo
- n – butanol
- Acetato de etilo
- Propanol
- Etanol
- Metanol
- Agua destilada

3.6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.6.1. Recolección de la muestra vegetal

La recolección de la muestra de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel. en estadio de florecimiento fue realizada en el distrito de Huando, provincia de Huancavelica, departamento de Huancavelica, el 29 de octubre entre las 2 pm y 5 pm. La cantidad seleccionada de corteza fue de 1.8 kg de muestra representativa., posteriormente se mantuvo en buen estado de conservación envolviéndose con papel Kraft a fin de evitar la humedad hasta su traslado a la ciudad de Lima.



Figura N°1: Recolección de la corteza

Fuente: Elaboración propia

3.6.2. Preparación de la muestra

- Limpieza: Se retiró todo residuo (tierra) que puede contaminar la muestra.
- Secado: En estufa circulante con una temperatura de 40 °C, todo ello con el objetivo de no alterar los metabolitos.
- Selección: La cantidad pesada a utilizar fue 1485 g
- Reducción de tamaño: Se procedió a triturar la muestra seca con una licuadora doméstica desinfectada previamente con alcohol de 96°.



Figura N°2: Secado de la corteza

Fuente: Elaboración propia

3.6.3. Obtención del extracto hidroalcohólico

Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel., colocando la muestra seca triturada con un peso total de 1485 g en 2000 ml de alcohol 96°. Se envaso en un frasco color ámbar, con constante agitación y protegido de la luz se dejó macerar por 7 días. Luego se filtró, para ello se utilizó papel filtro whatman N° 1 con la ayuda de un embudo. El producto obtenido de la filtración, fue vertido sobre placas petri, entre otros envases, y llevados a secar empleando una estufa a 40°C, temperatura adecuada para evitar alguna reacción química entre los metabolitos. Se secó hasta obtener una forma de melcocha o miel de abeja, obteniendo un peso de 20 g de contenido.



Figura N°3: Filtrado de la maceración

Fuente: Elaboración propia

3.6.4. Ensayos fitoquímicos

3.6.4.1. Prueba de solubilidad

Para la prueba de solubilidad se utilizó 0.1g del extracto seco de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel. para posteriormente utilizar 1 ml de los diferentes solventes (ciclo hexano, diclorometano. Cloroformo, n– butanol, acetato de etilo, propanol, etanol, metanol y agua).

3.6.4.2. Screening fitoquímico

Se expuso al extracto hidroalcohólico a diferentes tipos de reactivos con el fin de identificar las variedades de metabolitos que están presentes en la corteza. Se disolvió 0.5 g extracto seco de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel en 10 ml de etanol y se vertió 0.25 ml de esta disolución en cada uno de los tubos de ensayo.

Determinación de quinonas: BORNTRAGER

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 5 gotas Ciclohexano (solvente apolar) y posteriormente 5 gotas de NaOH, un resultado positivo da una coloración roja en fase acuosa.

Determinación de compuestos fenólicos:

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 5 gotas de FeCl₃. Será un resultado positivo cuando se observa un precipitado rojo oscuro, verde o azul.

Determinación de flavonoides: SHINODA

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 1 cinta de magnesio y luego 5 gotas de HCl concentrado. Será un resultado positivo cuando se observa una coloración anaranjado intenso.

Determinación de taninos:

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 5 gotas del reactivo de gelatina sal. Será un resultado positivo cuando se observa un precipitado blanco.

Determinación de alcaloides:**Dragendorff:**

Inicialmente al ensayo se acidulo la muestra adicionando 1 gota de HCl y luego se añadió 5 gotas del reactivo Dragendorff, un resultado positivo da un precipitado rojo.

Wagner:

Inicialmente al ensayo se acidulo la muestra adicionando 1 gota de HCl y luego se añadió 5 gotas del reactivo Wagner, un resultado positivo da un precipitado marrón.

Mayer:

Inicialmente al ensayo se acidulo la muestra adicionando 1 gota de HCl y luego se añadió 5 gotas del reactivo Mayer, un resultado positivo da un precipitado blanco o crema.

Determinación de triterpenos y esteroides:

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 5 gotas del reactivo de Liebermann – Burchard. Un resultado será positivo para esteroides si se observa una coloración verde-azul verdoso y para glicósidos triterpénicas; coloración roja.

Determinación de lactonas α β insaturadas:

En un tubo de ensayo conteniendo la muestra, se adicionó 5 gotas del reactivo Baljet, donde el resultado es positivo si presenta coloración roja.

Determinación azúcares reductores:**Benedict:**

En un tubo de ensayo conteniendo el extracto seco disuelto en agua destilada, se adicionó X gotas del reactivo de Benedict. Por último,

se llevó el tubo con la muestra a baño maría. El resultado será positivo si se observa un precipitado rojo.

Fehling:

En un tubo de ensayo conteniendo el extracto seco disuelto en agua destilada, se agregó V gotas de Fehling A más V gotas de Fehling B. Por último, se llevó el tubo con la muestra a baño maría. Para que la reacción sea positiva se observa un precipitado rojo.

Determinación saponinas:

En un tubo de ensayo conteniendo el extracto seco, se añadió 1 ml de agua destilada y se agitó vigorosamente. El resultado será positivo con la aparición de espuma persistente.

3.6.5. Determinación del efecto antipirético

3.6.5.1. Fundamento

El tejido cuando está infectado o dañado, se inicia la formación incrementada de los mediadores proinflamatorios como las citoquinas (interleucina -1β , interleucina α , interleucina β , TNF- α), la cual producen un aumento en la producción de prostaglandinas E2 cerca al área del hipotálamo y por ende hace que el hipotálamo incremente la temperatura corporal. La levadura de cerveza provoca la producción de TNF- α y por lo tanto de las prostaglandinas.³⁴ Para determinar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel, se utilizó el método de Adams, que consiste en inducir la fiebre mediante la administración- subcutánea de levadura de cerveza como agente pirógeno exógeno.

3.6.5.2. Preparación de la muestra animal

Se comenzó a preparar los animales para el ensayo, en la cual se utilizó 35 ratas albinas machos de la cepa Holzman distribuidas en grupos de 5, con un peso de 180g - 220g con 2 meses de edad, provenientes del Instituto Nacional de Salud, certificados por su buen estado sanitario.



Figura N°4: Bioterio con animales de experimentación

Fuente: Elaboración propia

Los animales de experimentación fueron aclimatados, en jaulas separadas durante siete días previos a la experimentación en el laboratorio, a $23 \pm 2^\circ \text{C}$ con una humedad relativa de $73 \pm 2\%$ por ciento y con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. La alimentación e hidratación fue *ad libitum*.

3.6.5.3. Estudio preliminar a la inducción de fiebre

Durante los 7 días de climatización se midió diariamente la temperatura basal a todos los animales, introduciendo el termómetro rectal previa lubricación con vaselina, a fin de constatar la variación de temperatura de cada una de ellas.



Figura N°5: Toma de temperatura rectal

Fuente: Elaboración propia

3.6.5.4. Inducción de la pirexia

Para dar inicio al ensayo, las ratas fueron sometidas en ayuno 24 horas antes del ensayo, y para la inducción a la pirexia se utilizó como agente inductor suspensión de levadura *Saccharomyces cerevisiae* al 15 por ciento p/v en NaCl al 0.9 por ciento, en una dosis de 10ml/kg administrada por vía subcutánea (dorso del animal) con un periodo de latencia de 18 horas.

Tabla 2. Volumen de administración del agente inductor

Volumen administrado del agente inductor				
GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV	GRUPO V
2.07	1.96	2.15	1.99	1.96



Figura N°6: Administración subcutánea del agente inductor

Fuente: Elaboración propia

3.6.5.5. Efecto antipirético

Transcurrido 18 horas de la inducción a la pirexia se seleccionó a todo animal que obtuvo un incremento 0.5 °C-1.0 °C sobre su temperatura basal y en relación al grupo control.³⁵ (Método Adams)

Se utilizaron 35 ratas para conformar los siguientes grupos experimentales:

Tabla 3. Grupos experimentales

GRUPOS	ANIMALES	DESCRIPCIÓN
GRUPO I	7	Se administró 100 mg/kg del extracto seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
GRUPO II	7	Se administró 200 mg/kg del extracto seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
GRUPO III	7	Se administró 400 mg/kg del extracto seco disuelto en el vehículo preparado para tal fin
GRUPO IV	7	Se administró 150 mg/kg de paracetamol.
GRUPO V	7	No se les administró tratamiento alguno, solo agua destilada 5ml/kg como placebo.

Se procedió la administración inmediata del extracto hidroalcohólico de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel a los grupos I, II y III con concentraciones 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg respectivamente, con la ayuda de una sonda orogástrica para su efecto sistémica.³⁶ Por otro lado, el grupo IV fue administrado con paracetamol[®] 150 mg/kg como control positivo y el grupo V; agua destilada 5 ml/kg como placebo.

Concluida la administración del extracto y controles a cada uno de los grupos, se realizó la medida de temperatura rectal por cada la 1, 2, 3, 4 y 5 horas de la administración.³⁷

Después de terminar con las medidas de temperaturas se procedió al sacrificio de las ratas mediante la dislocación cervical y fueron colocados en bolsas rojas para su posterior desecho.



Figura N°7: Administración orogástrica del extracto

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Resultados de la prueba de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) mostró ser muy soluble en metanol, etanol, propanol, n-butanol (solventes polares). Es poco soluble en diclorometano, cloroformo, acetato de etilo y agua destilada (solventes apolares) como se muestra en la tabla 4.

Tabla N°4: Resultado de prueba de solubilidad

Nº	Solventes	Resultados
1	Ciclo hexano	(-)
2	Diclorometano	(+)
3	Cloroformo	(+)
4	n-Butanol	(++++)
5	Acetato de etilo	(+)
6	Propanol	(++++)
7	Etanol	(++++)
8	Metanol	(++++)
9	Agua destilada	(++)

Insoluble: (-)

Muy poco soluble: (+)

Levemente soluble: (++)

Moderadamente Soluble: (+++)

Muy soluble: (++++)

4.1.2. Resultados del screening fitoquímico

Los principales grupos de componentes químicos del extracto *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) se observa en la tabla 5. Se hallaron la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y saponinas, metabolitos que pueden tener relación con el efecto antipirético.

Tabla N°5: Resultado de la screening fitoquímico

Nº	Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
1	Borntrager	Quinonas	Coloración roja en fase acuosa	(+)
2	FeCl ₃	Comp. fenólicos	Coloración verde azulada	(++++)
3	Shinoda	Flavonoides	Tonos rojos	(+)
4	Gelatina sal	Taninos	Precipitado blanco	(++)
5	Dragendorff	Alcaloides	Precipitado rojo	(+)
6	Wagner	Alcaloides	Precipitado marrón	(+++)
7	Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco a crema	(++)
8	Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides	Una coloración semi-roja dando débilmente positivo	(+)
9	Baljet	Lactonas α , β insaturadas	Coloración roja	(++)
10	Benedict	Azúcares reductores	Precipitado rojo	(+++)
11	Fehling	Azúcares reductores	Precipitado rojo	(+++)
12	Espuma	Saponinas	Formación de espuma persistente	(++++)

Ausencia: (-)

Leve: (+)

Moderado: (++)

Abundante: (+++)

4.1.3. Resultados del efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel

Tabla N°6: Resultado de la medida de temperatura a diferentes concentraciones y tiempo.

		0H	1H	2H	3H	4H	5H
GRUPO 1: Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 100 mg/kg	Rata 1	37.8	37.7	37.6	37.5	37.3	37.2
	Rata 2	37.7	37.7	37.6	37.5	37.3	37.2
	Rata 3	37.6	37.5	37.4	37.3	37.1	37
	Rata 4	37.8	37.8	37.7	37.6	37.4	37.3
	Rata 5	38.2	38.2	38.1	38	37.8	37.7
	Rata 6	38	38	37.9	37.8	37.6	37.5
	Rata 7	38.1	38.1	37.9	37.8	37.6	37.5
GRUPO 2: Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 200 mg/kg	Rata 1	38.2	38.2	38	37.9	37.7	37.6
	Rata 2	38.1	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 3	38.1	38	37.8	37.7	37.5	37.4
	Rata 4	38.1	38	37.8	37.7	37.5	37.4
	Rata 5	38	37.8	37.6	37.5	37.3	37.2
	Rata 6	38.2	38.2	38	37.9	37.7	37.6
	Rata 7	38	37.6	37.4	37.3	37.1	37
GRUPO 3: Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 400 mg/kg	Rata 1	38	37.9	37.7	37.6	37.4	37.3
	Rata 2	38.1	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 3	37.8	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 4	38	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 5	38.1	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 6	38.1	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)	(muerto)
	Rata 7	38.1	38	37.8	37.7	37.5	37.4
GRUPO 4: Paracetamol® 500 mg/kg	Rata 1	38.1	37.8	37.4	37.2	37	36.9
	Rata 2	38.1	37.8	37.4	37.2	37	36.9
	Rata 3	38	37.7	37.3	37.1	36.9	36.8
	Rata 4	38.1	37.8	37.4	37.2	37	36.9
	Rata 5	38	37.7	37.3	37.1	36.9	36.8
	Rata 6	38.1	37.8	37.4	37.2	37	36.9
	Rata 7	38.1	37.8	37.4	37.2	37	36.9
GRUPO 5: Agua destilada	Rata 1	38.1	38	38.2	38.3	38.3	38.3
	Rata 2	38.1	38.1	38.1	38.1	38.2	38.2
	Rata 3	38.1	38.1	38.1	38.2	38.2	38.2
	Rata 4	38	38	38	38	38.1	38.1
	Rata 5	38.1	38.1	38.3	38.3	38	38
	Rata 6	38	38	38	38.1	38.1	38.1
	Rata 7	38.2	38.1	38.1	38.1	38.1	38.1

En la tabla N° 6, se observa las diferentes temperaturas que fueron tomadas en cada hora. Evidenciándose una clara disminución de temperatura en las tres

concentraciones del extracto hidroalcohólico después de 1 hora, el paracetamol tuvo una mayor disminución de 0,3 de temperatura a comparación de los 3 extractos a la hora que tuvieron una variación de T° de 0,02 a 0,1.

4.1.4. Resultados Estadísticos:

Los resultados obtenidos, se analizarán estadísticamente a través del Análisis descriptivo e inferencial con el programa SPSS, para determinar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico en los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ($p < 0.05$) por un test de ANOVA

4.1.4.1. Resultados estadísticos de la evaluación de la temperatura en cada tratamiento con respecto al tiempo

Tabla N°7: Resultados estadísticos de la evaluación de la temperatura en cada tratamiento con respecto al tiempo.

Tratamiento	Tiempo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 100 mg/kg	0	37,886	,047	37,788	37,983
	1	37,857	,064	37,725	37,989
	2	37,743	,064	37,610	37,876
	3	37,643	,065	37,509	37,777
	4	37,443	,062	37,315	37,571
	5	37,343	,064	37,211	37,475
Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 200 mg/kg	0	38,100	,051	37,994	38,206
	1	37,967	,069	37,824	38,109
	2	37,767	,070	37,623	37,910
	3	37,667	,070	37,522	37,811
	4	37,467	,067	37,329	37,605
	5	37,367	,069	37,224	37,509
Extracto hidroalcohólico de la <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel 400 mg/kg	0	38,050	,089	37,867	38,233
	1	37,950	,120	37,703	38,197
	2	37,750	,121	37,501	37,999
	3	37,650	,121	37,400	37,900
	4	37,450	,116	37,211	37,689
	5	37,350	,120	37,103	37,597
Paracetamol® 500 mg/kg	0	38,071	,047	37,974	38,169
	1	37,771	,064	37,639	37,903
	2	37,371	,064	37,238	37,504
	3	37,171	,065	37,038	37,305
	4	36,971	,062	36,844	37,099
	5	36,871	,064	36,739	37,003

Agua destilada	0	38,086	,047	37,988	38,183
	1	38,057	,064	37,925	38,189
	2	38,114	,064	37,981	38,247
	3	38,157	,065	38,023	38,291
	4	36,871	,062	36,744	36,999
	5	38,143	,064	38,011	38,275

En la Tabla N° 7, se aprecia el grupo de menor promedio de T° corresponde al grupo del Paracetamol® 500 mg/kg con 37.77. De los tres extractos que mayor disminución de temperatura tuvo a la hora fue el extracto hidroalcohólico de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel 100 mg/kg presentando media promedio de 37.86, señalando que las dos concentraciones de 200 mg/kg y 400 mg/kg también tuvieron efecto antipirético.

4.1.4.2. Prueba de normalidad

Tabla N°8: Prueba de normalidad

Tiempo	Temperatura	Tratamiento	Shapiro- Wilk		
			Estadístico	gl	Sig.
0 horas	T°	A	,949	7	,720
		B	,858	7	,144
		C	,720	7	,056
		D	,600	7	,050
		E	,840	7	,099
1 hora	T°	A	,954	7	,763
		B	,908	6	,421
		C	-	-	-
		D	,600	7	,050
		E	,664	7	,001
2 horas	T°	A	,962	7	,833
		B	,908	6	,421
		C	-	-	-
		D	,600	7	,050
		E	,894	7	,294
3 horas	T°	A	,962	7	,833
		B	,908	6	,421
		C	-	-	-
		D	,600	7	,050
		E	,887	7	,262
4 horas	T°	A	,962	7	,833
		B	,908	6	,421
		C	-	-	-
		D	,600	7	,050
		E	,600	7	,000

5 horas	T°	A	,962	7	,833
		B	,908	6	,421
		C	-	-	-
		D	,600	7	,050
		E	,937	7	,609

Como se observa en el cuadro, se compara las temperaturas por grupo según el tiempo y teniendo como resultado una significancia mayor a 0.05 indicando que se debe usar una prueba paramétrica como es el ANOVA para medidas repetitivas.

4.1.4.3. Evaluación del modelo de Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas entre el tiempo vs. Tratamiento.

TABLA N°9: Evaluación del modelo de Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas entre el tiempo vs. tratamiento.

PRUEBA MULTIVARIANTE						
Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
T°tiempo	Traza de Pillai	,995	859,942 ^b	5,000	20,000	,000
	Lambda de Wilks	,005	859,942 ^b	5,000	20,000	,000
	Traza de Hotelling	214,985	859,942 ^b	5,000	20,000	,000
	Raíz mayor de Roy	214,985	859,942 ^b	5,000	20,000	,000
T°_tiempo * Tratamiento	Traza de Pillai	2,164	5,423	20,000	92,000	,000
	Lambda de Wilks	,000	42,285	20,000	67,282	,000
	Traza de Hotelling	253,093	234,111	20,000	74,000	,000
	Raíz mayor de Roy	234,950	1080,770 ^c	5,000	23,000	,000

En el cuadro, la significancia en relación a la temperatura en los diferentes tiempos y grupos tratamientos es menor a 0.05, lo que indica la existencia de una diferencia estadística con nivel de confianza del 95 %.

4.1.4.4. Comparación entre los grupos experimentales con el grupo control positivo en relación al tiempo.

Tabla N°10: Comparación entre los grupos experimentales con el grupo control positivo en relación al tiempo. (Test de Dunnet)

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
T°cero	A	D	-,1857*	,0705	,038	-,362	-,009
	B	D	,0286	,0705	,957	-,148	,205
	C	D	-,0429	,0705	,875	-,220	,134
T°uno	A	D	,0857	,1031	,764	-,181	,352
	B	D	,1952	,1073	,211	-,082	,473
	C	D	,1786	,1547	,554	-,221	,579
T°dos	A	D	,3714*	,1000	,004	,113	,630
	B	D	,3952*	,1041	,004	,126	,664
	C	D	,3786	,1500	,057	-,009	,766
T°tres	A	D	,4714*	,1000	,000	,213	,730
	B	D	,4952*	,1041	,000	,226	,764
	C	D	,4786*	,1500	,014	,091	,866
T°cuatro	A	D	,4714*	,1000	,000	,213	,730
	B	D	,4952*	,1041	,000	,226	,764
	C	D	,4786*	,1500	,014	,091	,866
T°cinco	A	D	,4714*	,1000	,000	,213	,730
	B	D	,4952*	,1041	,000	,226	,764
	C	D	,4786*	,1500	,014	,091	,866

A: Extracto hidroalcohólico de la Colletia spinosissima L.J.F. Gmel 100 mg/kg

B: Extracto hidroalcohólico de la Colletia spinosissima L.J.F. Gmel 200 mg/kg

C: Extracto hidroalcohólico de la Colletia spinosissima L.J.F. Gmel 400 mg/kg

D: Paracetamol® 500 mg/kg

Según lo registrado en la tabla, se aprecia que a partir del tiempo dos el valor de la significancia es menor a 0.05 indicando una diferencia estadísticamente significativa respecto a Grupo A y B con el grupo D.

A partir del tiempo dos estadísticamente se evidenció el efecto antipirético sobre el Paracetamol® 500 mg/kg.

4.1.4.5 Comparación entre los grupos experimentales

Tabla N°11: Comparación entre los grupos experimentales

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
T°cero	Entre grupos	,167	2	,083	3,723	,044
	Dentro de grupos	,403	18	,022		
	Total	,570	20			
T°uno	Entre grupos	,042	2	,021	,383	,690
	Dentro de grupos	,655	12	,055		
	Total	,697	14			
T°dos	Entre grupos	,002	2	,001	,018	,982
	Dentro de grupos	,615	12	,051		
	Total	,617	14			
T°tres	Entre grupos	,002	2	,001	,018	,982
	Dentro de grupos	,615	12	,051		
	Total	,617	14			
T°cuatro	Entre grupos	,002	2	,001	,018	,982
	Dentro de grupos	,615	12	,051		
	Total	,617	14			
T°cinco	Entre grupos	,002	2	,001	,018	,982
	Dentro de grupos	,615	12	,051		
	Total	,617	14			

- El grado de libertad entre la variabilidad entre grupos es 2.
- Según la tabla el p-valor de la varianza de la prueba es mayor a 0.05, lo cual indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa.

Gráfica de la temperatura en relación con el tiempo

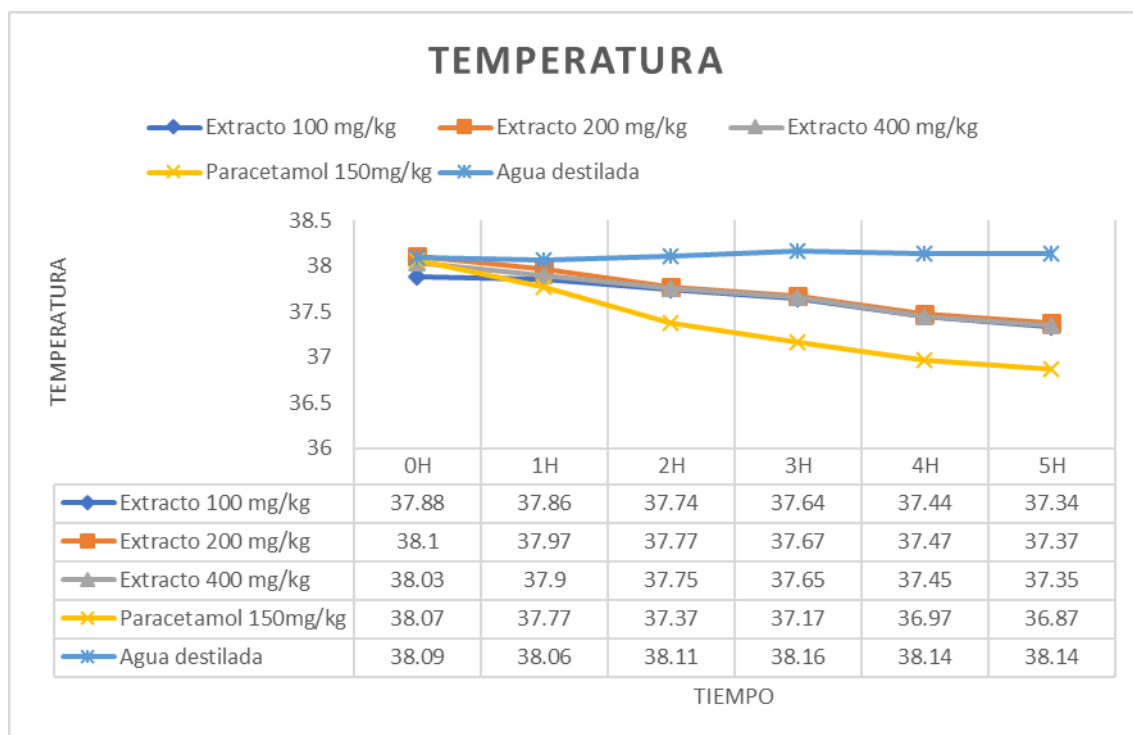


Figura N°8: Resultados estadísticos de la temperatura en relación con el tiempo

En la figura se visualiza que el grupo tratamiento (extracto hidroalcohólico de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel de 100, 200 y 400 mg/kg) ayudan a disminuir la temperatura lo cual se evidencia una hora después de haber sido administradas, demostrando de esta manera su efecto antipirético con pequeñas diferencias entre cada concentración del extracto.

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. Hipótesis General

- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) administrada por vía oral en un modelo experimental de inducción a fiebre, tiene efecto antipirético en las ratas albinas con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

4.2.2. Hipótesis específica

- En el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) se encontraron metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos, taninos, alcaloides. Los metabolitos secundarios encontrados poseen antecedentes relacionado con el efecto antipirético.^{38, 39}
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) al 100, 200 y 400 mg/kg poseen efecto antipirético en las ratas albinas en el transcurso del tiempo. Estadísticamente no posee una diferencia significativa ($p > 0.05$) lo que indica que en algún tiempo las temperaturas tomadas en cada tratamiento, no tendrán mucha diferencia y se parecerán.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) no posee estadísticamente un mejor efecto antipirético en comparación con el paracetamol 150 mg/kg.

4.3. Discusión de resultados

La especie *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel es utilizada tradicionalmente por sus propiedades antipiréticas; sin embargo, hoy en día no se cuenta con una información científica que le atribuya dicho efecto, por tal razón la presente investigación tiene como propósito demostrar si el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel, tiene efecto antipirético en animales de experimentación.

Realizada el procedimiento del ensayo de solubilidad al extracto hidroalcohólico de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel. se determinó que es muy soluble en butanol, propanol, etanol y metanol (solventes polares), así mismo poco soluble en cloroformo, acetato de etilo y diclorometano. Lo que nos indica que existe un mayor contenido de compuestos polares en su composición.

En el screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel. se determinó la presencia de metabolitos secundarios principalmente los compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, (ver tabla N°1), lo cual es semejante a la investigación “Efecto cicatrizante del champú líquido de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel, realizada por Herrero B, Arroyo J, Herrera O, Condorhuamán M, Pari B, Loyola E. et al.

El mecanismo celular y molecular de la fiebre se relaciona con el bloqueo de la ciclooxigenasa 2 para detener la producción de las prostaglandinas responsables del dolor, inflamación y la fiebre. El fármaco más conocido que tiene efecto inhibitorio no selectivo de los 2 isómeros de ciclooxigenasas es el acetilsalicílico, que es un derivado fenólico del ácido benzoico.⁴⁰

Se sabe que existen muchos metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, las saponósidos (saponinas) con genina triterpénica presentes en las angiospermas dicotiledóneas como en la familia de las rhamnaceae,

con efecto antiinflamatorio y antitérmico. (Bruneton,J.; y col.1979).⁴² En el estudio “Toxicidad aguda, estudio antipirético y anti nociceptivo de la saponina cruda de un vegetal comestible: hoja de *Vernonia amigdalina*” reportada por Adiukwu, P., se demuestra el efecto antipirético de una saponina cruda extraída en un medio acuoso.⁴¹

Un estudio realizado en Arequipa determinó el efecto antipirético de extractos blandos de hojas de *Perezia multiflora* (escorzonera) donde se detectaron también la presencia de sustancias terpénicas, saponinas y también alcaloides. ⁴² Estas investigaciones realizadas coinciden con nuestro estudio, cuya composición química formada por saponinas, alcaloides, compuestos fenólicos, presentan efecto antipirético.

En la investigación realizada, se demostró que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel presenta efecto antipirético en ratas albinas, se evidenció el efecto en las tres dosis usadas (100, 200 y 400 mg/kg) pero a las dosis de 200 y 400 mg/kg se presentó la muerte de ratas. Se conoce que muchos fármacos, por ejemplo, ácido acetilsalicílico, barbitúricos, fenitoína (difenílhidantoína), sulfonamidas y ácido valproico, se unen a las proteínas y el fármaco libre es el responsable del efecto terapéutico, pero si existe una sobredosis de esto hará que los sitios de unión se saturen y se produzca más toxicidad. ⁴³ Por tal motivo, se podría decir que para hacer un buen uso del extracto hidroalcohólico de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel no es necesario llegar a una dosis más alta ya que podría ser toxica.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Durante el proceso experimental se logró determinar que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) tiene efecto antipirético, en ratas, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).
2. Se logró identificar a través del screening fitoquímico que el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel (tacsana) posee los siguientes metabolitos secundarios en abundancia: compuestos fenólicos, alcaloides, taninos y saponinas.
3. El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel con las concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg tienen efecto antipirético a las 2 horas de administración, y que entre ellas no hay mucha diferencia en cuanto a la efectividad.
4. El paracetamol 150 mg/kg tiene mejor efecto antipirético a comparación de las tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel, se evidenció la disminución de temperatura una hora después de su administración a comparación de los extractos con una hora de diferencia.

5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad en animales de experimentación de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel a fin de evaluar la dosis toxica o letal del extracto de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel administrado por vía oral en animales de experimentación.
2. Realizar estudios, utilizando concentraciones más diluidas que la concentración 100 mg/kg para verificar si aún tiene efecto antipirético.
3. Realizar estudios referentes a los demás usos tradicionales como purgante y astringente que tiene la corteza de la *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel.
4. Realizar estudios que tengan como finalidad identificar el componente químico presente en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F. Gmel. responsable del efecto farmacológico.

REFERENCIAS

1. El comercio. Conoce el mercado de la medicina natural en el Perú [Internet]. Perú: el comercio; 2017 [Fecha de acceso 14 de marzo 2019]. Disponible en URL: <https://elcomercio.pe/suplementos/comercial/medicina-salud/conoce-mercado-medicina-natural-peru-1002885>
2. Administración de Alimentos y Drogas (FDA) Advierte que el medicamento antipirético y analgésico acetaminofén (paracetamol) puede causar reacciones poco comunes pero serias en la piel. [Internet]. EE. UU: 2013 [Fecha de acceso 10 de marzo 2019]. Disponible en URL: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm364483.htm>
3. Yuyero. Propiedades de la barba de tigre, el febrífugo natural [Internet]. 2018; [Fecha de acceso 6 de enero 2019]. Disponible en URL: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:5j5z2Ncfx2AJ:https://dryuyo.com/plantas-medicinales/propiedades-de-la-barba-de-tigre-febrifugo-natural/+&cd=22&hl=es&ct=clnk&gl=pe>
4. Álpizar L, Medina E, Fisiopatología de la Fiebre. Rev cubana Med Milit. 1999; 28(1): 49-54.
5. Crespo M, Navarro R, Crespo E, Navarro M. Fármacos de uso frecuente y controvertido en pediatría: Antipiréticos y catarrales. Sescam. 2010; 11(3). 1-2
6. Brooks M. Los analgésicos comunes pueden dañar la audición [Internet]. Fecha de acceso 9 de marzo, 2010. Disponible en URL http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/news/fullstory_96227.html
7. Herrera, B., Arroyo, J. L., Herrera, O., Condorhuamán, M., Pari, B., & Loyola, E. (2014). Efecto cicatrizante del champú líquido de colletia

- Spinosissima j. gmelin "Tacsana" en ratones. Ciencia e Investigación. 2014; 17(2), 69-73.
8. Matos, H., Beatriz, S. Efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (TACSANA) sobre la irritación inducida en piel de ratas [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2017.
 9. Martínez, R. (2014). Estudio del efecto antipirético del extracto del kanacho (*Sonchus oleraceus* L.) en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*). Universidad Alas Peruanas. Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la salud; Arequipa. 2014
 10. Ccahuana, D., Larico, I. Evaluación del Efecto Antipirético y Antiinflamatorio del Extracto de Hojas de *Kageneckia Lanceolata* (lloque) en Animales de Experimentación [Tesis]. Universidad Católica de Santa María. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, Arequipa. 2016
 11. Valdivia J. Evaluación del efecto antipirético de los Extractos secos de las Hojas de *Perezia Multiflora* (ESCORZONERA) en animales de experimentación [Tesis]. Universidad Católica de Santa María. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, Arequipa. 2013.
 12. Nisar, M., Adzu, B., Inamullah, K., Bashir, A., Ihsan, A., Gilani, A. (2007). Efectos antinociceptivos y antipiréticos de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew. Investigación en Fitoterapia. 2007, 21(7), 693-695.
 13. Pimpale, Y., Godbole, P., Mahajan, R. Efecto antipirético de la fracción flavonoide aislada de la raíz de *Zizyphus jujuba* Mill. Celebrar la química. 2011;2(1) p. 20-22.

14. Rauf, A., Ali, J., Khan, H., Mubarak, M., Patel, S. (2016). CAM *Ziziphus nummularia* emergente con atributos sedantes-hipnóticos, antipiréticos y analgésicos in vivo. 3 biotecnología. 2016; 6(1), 1-10.
15. Nisar, M., Adzu, B., Inamullah, K., Bashir, A., Ihsan, A., & Gilani, A. H. Efectos antinociceptivos y antipiréticos de las hojas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew. Investigación en Fitoterapia: Una revista internacional dedicada a la evaluación farmacológica y toxicológica de derivados de productos naturales. 2007, 21(7), 693-695.
16. Martínez, S., Paz, J., Corral, A., Martínez, C. Efecto diurético y antipirético de un extracto fluido de *Rosmarinus officinalis* L. en ratas. Rev cubana Plant Med. 2004; 9(1), 1-6.
17. Hernández, M., Pizarro, A., Hernández, Y., Bernal, T., Tamayo, I., Machado, F. Efecto antipirético de un extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. en ratas de la línea Wistar como modelo experimental. Acta Médica del Centro, 2014; 8(3), 14-20.
18. Martínez S., Jiménez C., Laza, A., Del Rio Brito, S. Efecto antipirético del producto natural Noni-C en un modelo experimental en conejos. Revista Cubana de Medicina Militar, 2015; 44(4), 398-405.
19. Hajare, S., Chandra, S., Tandan, S., Sarma, J., Lal, J., & Telang, A. G. Efectos analgésicos y antipiréticos de las hojas de *Dalbergia sissoo*. Diario indio de farmacología, 2000; 32(6), 357-360.

20. Yuyero. Propiedades de la barba de tigre, el febrífugo natural. Dr. Yuyo [Internet] [Fecha de acceso 1 de febrero 2019]. Disponible en URL: <https://dryuyo.com/plantas-medicinales/propiedades-de-la-barba-de-tigre-febrifugo-natural/>
21. Reynel C. Plantas para Leña en el Sur-occidente de Puno [Internet]. Puno: Editorial Inter Cooperation; 1988. [Fecha de acceso 12 de enero 2019]. Disponible en URL: <http://www.asocam.org/sites/default/files/publicaciones/files/4383e3f1190fbb0d4fa070194058b88d.pdf>
22. Herrera S. Efecto protector del champú conteniendo extracto etanólico de corteza y brotes tiernos de *Colletia spinosissima* J. Gmelin (TACSANA) sobre la irritación inducida en piel de ratas [Tesis doctoral]. UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; Lima. 2017
23. Kuklinski, C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega; 2000 [Fecha de acceso 2 de enero 2019].
24. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17(6): 271-278.
25. Peñarrieta, JM, Tejeda, L, Mollinedo, P, Vila, JL, Bravo, JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química [Internet]. 2014;31(2):68-81. Disponible en URL: <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>

26. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3): 119-145.
27. Hieronymus, G. *Plantae Diaphoricae Florae Argentinae* [Internet]. 1882; (2): 64, 65 - 404 pp. [Fecha de acceso 16 de enero 2019]. Disponible en URL:
<https://ia800300.us.archive.org/30/items/plantaediaphoric00hier/plantaediaphoric00hier.pdf>
28. Ramón F. Farías J.M, La fiebre. Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM. 2014; 57 (4): 20-33.
29. Barrios A. Fiebre: Actualización en el uso de antipiréticos [Internet]. 2012; 11(4): 26-35. Disponible en URL:
https://www.researchgate.net/publication/307108315_Fiebre_actualizacion_en_el_uso_de_antipireticos
30. Jimeno A. Moreno A. Dolores M. Temperatura corporal: Termorregulación [Internet]. Cartagena: Albaladejo J; c2012 [Fecha de acceso 25 de enero 2019]. Fundación para la formación e investigación sanitaria de la región Murcia; [aprox. 8 pantallas] Disponible en URL:
http://www.ffis.es/volviendoalobasico/tema_3_temperatura_corporal_termorregulacin.html
31. Barrios A. Fiebre: Actualización en el uso de antipiréticos: Precop SCP [Internet] 2012 [Fecha de acceso 10 de enero 2019]; 11(4). Disponible en URL: https://biblioguias.uam.es/citar/estilo_vancouver
32. Pradilla O. Ciclooxygenasa 3 La nueva isoenzima en la familia [Internet] 2004 [Fecha de acceso 24 de febrero 2019]; 7(21). Disponible en URL:
<https://revistas.unab.edu.co/index.php/medunab/article/download/216/199/>

- 33.M. Farre, S. Abanades, Y. Alvarez, D. Barral, P.Roset. Paracetamol [Internet] 2004 2004 [Fecha de acceso 30 de febrero 2019] ;19 (5-15) Disponible en URL: https://www.researchgate.net/profile/Magi_Farre/publication/287337779_Paracetamol/links/5679d32e08aeaa48fa4ad9dc/Paracetamol.pdf?origin=publication_list
- 34.Feria M, Mediadores celulares, Inflamación e inmunidad. Florez J, editor. Farmacología humana. Ed 3°. España: Masson, S.A; 1997. p. 355-388
- 35.Adams, S. S., Hebborn, P., & Nicholson, J. S. (1968). Algunos aspectos de la farmacología del ibufenaco, un agente antiinflamatorio no esteroideo. Revista de Farmacia y Farmacología. 1968; 20 (4): 305–312.
- 36.Balakrishnan, A., Balasubramaniam, P. D., & Natesan, S. K. (2012). Actividad antipirética de Zizyphus jujuba lam. Hojas. Revista de Investigación Científica Avanzada,3(3): 40-41.
- 37.George, B. P., Parimelazhagan, T., Saravanan, S., & Chandran, R. (2013). Propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas de Rubus niveus Thumb. Extracto de acetona de raíz. Farmacologia, 4(3): 228–235.
- 38.Semwal K., Semwal R., Semwal R., Jacob V., & Singh G. Actividades analgésicas y antipiréticas de la gindarudina, un alcaloide de morfina de Stephania glabra. Compuestos bioactivos actuales [Internet] 2011 [Consultado 21 ene 2019]; 7(3). Disponible en: <http://ugcdskpdf.unipune.ac.in/Journal/uploads/CH/CH100008-A-1.pdf>
- 39.Adiukwu, P., Amon, A., Nambatya, G., Adzu, B., Imanirampa, L., Twinomujuni, S.,& Okoruwa, G. Toxicidad aguda, estudio antipirético y antinociceptivo de la saponina cruda de un vegetal comestible: la hoja de Vernonia amygdalina. Revista Internacional de Ciencias Biológicas y Químicas [Internet]. 2012 [Fecha de acceso 21 de enero 2019]; 6(3), Disponible en URL: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/80845-191966-1-PB%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/80845-191966-1-PB%20(2).pdf)

40. Ganong, W. (1998). "Fisiología Médica". 23ª Edición. Ciudad de México: El Manual Moderno S A. p 28.
41. Bruneton, J. (1979). "Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia". Primera Edición. Zaragoza. Editorial Acribas, p 105.
42. Valdivia UJ. Efecto antipirético de los extractos secos de *Perezia multiflora* (escorzonera) en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María, Arequipa. 2013
43. Osterhoudt K, Penning T. Toxicidad e intoxicación por fármacos. En: Goodman y Gilman. Laurence L. Brunton PhD, editor. Las bases farmacológicas de la terapéutica. ed12. México: 2011. p. 73-88.

ANEXOS

EL EFECTO ANTIPIRÉTICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CORTEZA DE <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F.Gmel (tacsana) EN RATAS ALBINAS.						
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLES	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA
1. ¿Tendrá efecto antipirético el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) en ratas albinas?	1. Determinar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) en ratas albinas.	1.El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) tiene efecto antipirético en ratas albinas.	V. INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana)	DIMENSIONES Variable independiente: Fitoquímico Variable dependiente: Farmacológico	INDICADORES -Metabolitos -Concentración -Comparación con el fármaco paracetamol	Diseño: Experimental – transversal Tipo: Aplicada Nivel: Explicativo Población: 35 ratas albinas (Macho cepa Holtzmann)
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPOTESIS ESPECÍFICAS	V. DEPENDIENTE		INDICADORES	
1. ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) que tendrán efecto antipirético en ratas albinas?	1. Determinar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) que presentan efecto antipirético en ratas albinas.	1. El extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) presenta metabolitos responsables del efecto antipirético en ratas albinas.	Efecto antipirético		-Medición de la temperatura	- Técnica: Experimentación y screening fitoquímico - Instrumento: Ficha de observación Ad-hoc Procesamiento y análisis de datos Análisis con programa de Anova
2. ¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) con mayor efecto antipirético en ratas albinas?	2. Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) que presenta mayor efecto antipirético en ratas albinas.	2. Existe una concentración del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) que presenta mayor efecto antipirético en ratas albinas.				
3. ¿Tendrá un mayor efecto antipirético el extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) comparado con el Paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas?	3. Comparar el efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) frente al paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas.	3. Existe un mayor efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de la corteza de <i>Colletia spinosissima</i> L.J.F. Gmel (tacsana) comparado con Paracetamol® (150 mg/kg) en ratas albinas.				

Anexo 02: Certificado botánico

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

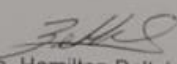
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta proporcionada por la Sra. KATHERIN MARIELA FLORES TIPTÉ & MÓNICA MARILYN CUEVAS HUANACO, Tesistas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Colletia spinosissima* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:



Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Rhamnales
Familia: Rhamnaceae
Genero: *Colletia*
Especie: *Colletia spinosissima* L.J.F.Gmel

Se expide la presente certificación a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Lima, 31 octubre 2018


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CRP 2719

Anexo 03: Certificado de sanidad de animales de experimentación

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		002 - 2019	
Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 01- 2019
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 35
Cepa	: Holtzman	Edad	: 02 mes
Peso	: 180 - 200 g.	Sexo	: macho
G.R..	: 0036866	Destino	:
Lima	: 09-01-2019		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 09 de enero del 2019 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-end;"><div style="width: 45%;"><p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p></div><div style="width: 45%; text-align: right;"> M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586</div></div>			

Anexo 04: Ficha técnica



Universidad
Inca Garcilaso de la Vega
Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

**EFFECTO ANTIPIRETICO DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE LA CORTEZA DE
COLLETIA SPINOSISSIMA L.J.F. GMEL EN RATAS ALBINAS**

Tamizaje Fitoquímico – Reconocimiento de Metabolitos

MARCHA FITOQUIMICA DE COLLETIA SPINOSISSIMA L.J.F. GMEL				
Nº	Ensayo	Metabolito	Reacción positiva	Resultado
1	BORNTRAGER	Quinonas		
2	FeCl ₃	Compuestos fenólicos		
3	SHINODA	Flavonoides		
4	GELATINA SAL	Taninos		
5	DRAGENDORFF	Alcaloides		
6	WAGNER	Alcaloides		
7	MAYER	Alcaloides		
8	LIEBERMANN BURCHARD	Triterpenos y esteroides		
9	BALJET	Lactonas α y β insaturadas		
10	BENEDICT	Azúcares reductores		
11	FEHLING	Azúcares reductores		
12	ESPUMA	Saponinas		

Leyenda:


(-) : Ausencia

(++) : Moderado

(+) : Leve

(+++): Abundante

Validado por: DR. PABLO ENRIQUE BONILLA RIVERA


Firma



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTIPIRÉTICO (JUICIO DE EXPERTOS)**

Grupo al que pertenece

Modelo de estudio.....

Sustancia inductora de la fiebre.....

Zona de administración de la sustancia inductora de la fiebre.....

.....

Dosis de la sustancia inductora de la fiebre.....

Sexo.....

Hora de administración del tratamiento.....

Tratamiento antipirético

- Medición de la temperatura

Hora inicial..... Hora final

TEMPERATURA	TIEMPO					
	0 horas	1 hora	2 horas	3 horas	4 horas	5 horas
T°						

Validado por: *DRA Q.F. TERESA MOZALES QUIROPE.*


.....
Firma

Anexo 05: Testimonios fotográficos



Figura N°09: Recolección de la *Colletia spinosissima* L.J.F.Gmel en la provincia de Huancavelica.



Figura N°10: Preparación del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Colletia spinosissima* L.J.F.Gmel.



Figura N°11: Obtención del extracto seco de *Colletia spinosissima* L.J.F.Gmel.

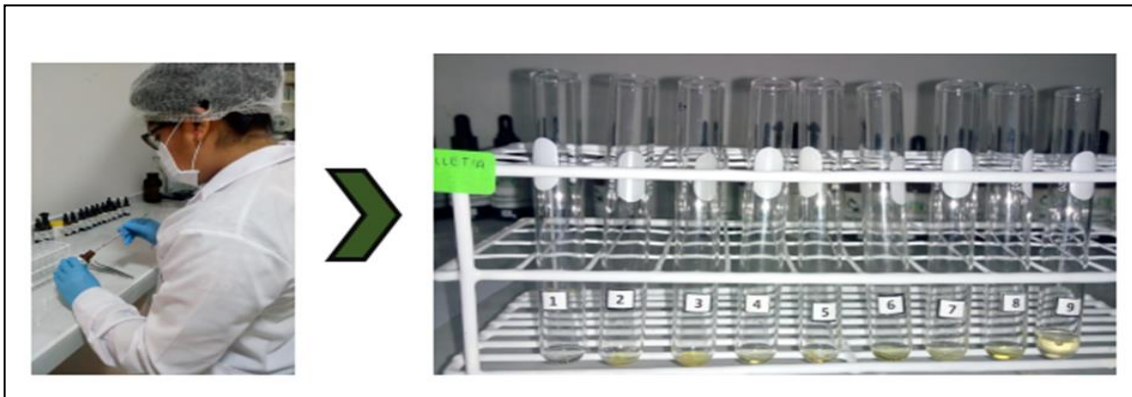


Figura N°12: Prueba de Solubilidad



Figura N°13: Resultado del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la *Colletia spinosissima* L.J.F.Gmel

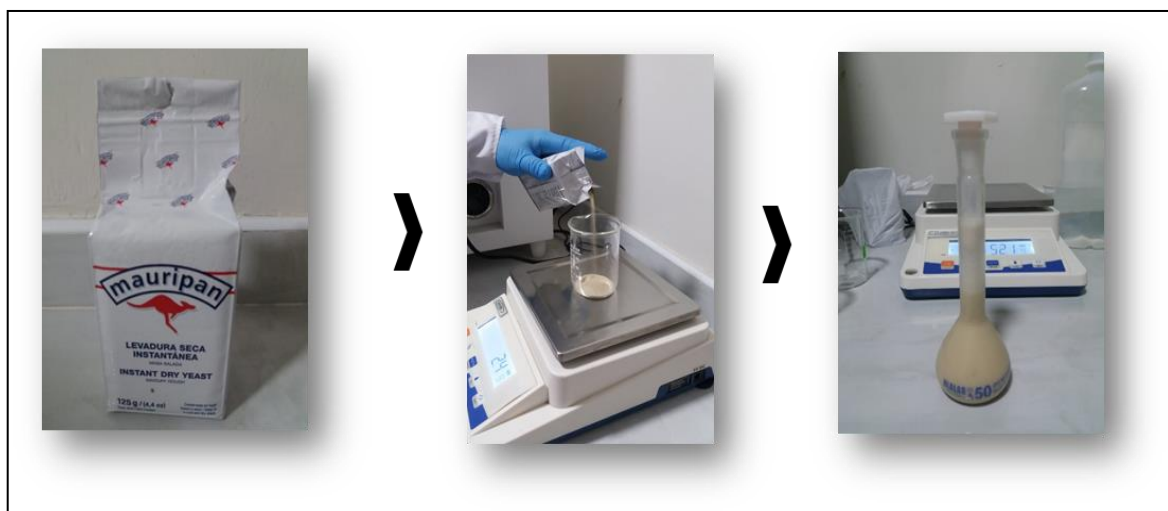


Figura N°14: Preparación del agente inductor



Figura N°15: Esquema preparación de sustancia experimental a diferentes concentraciones

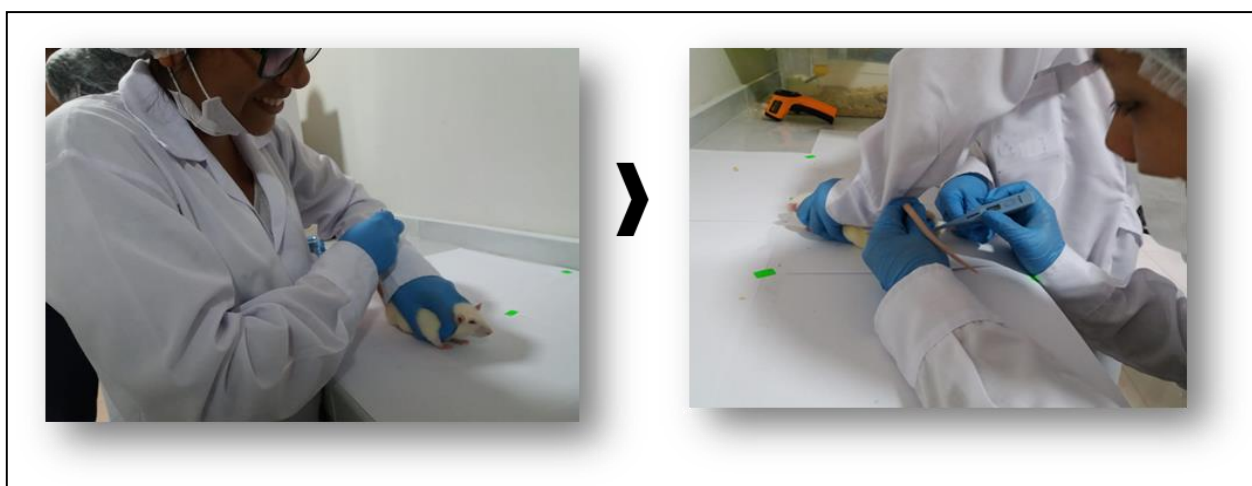


Figura N°16: Medición de la temperatura rectal en animales de experimentación

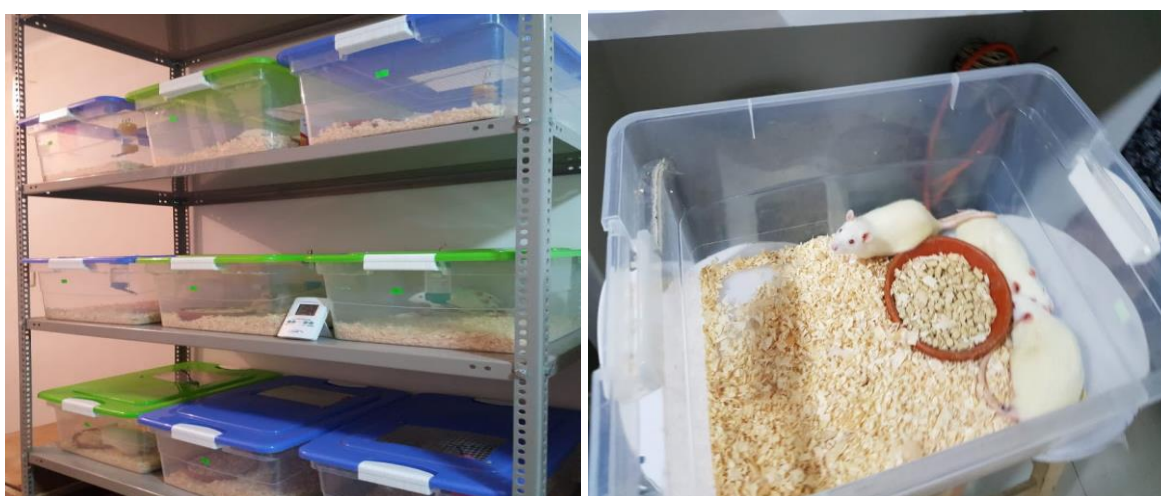


Figura N°17: Acondicionado de los animales de experimentación